

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DANIELA REGINA BUCH LEITE

INIBIDORES DA RNA POLIMERASE DEPENDENTE DE RNA EM ESPÉCIES  
VEGETAIS, ATIVIDADE ANTIVIRAL DO GÊNERO *KALANCHOE*  
(CRASSULACEAE) E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOTÓXICO  
*in vitro* DE *Kalanchoe laetivirens* DESC. (CRASSULACEAE)

CURITIBA

2023

DANIELA REGINA BUCH LEITE

INIBIDORES DA RNA POLIMERASE DEPENDENTE DE RNA EM ESPÉCIES  
VEGETAIS, ATIVIDADE ANTIVIRAL DO GÊNERO *KALANCHOE*  
(CRASSULACEAE) E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOTÓXICO  
*in vitro* DE *Kalanchoe laetivirens* DESC. (CRASSULACEAE)

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, no Setor de Ciências da Saúde, na Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marilis Dallarmi Miguel

Coorientador: Prof. Dr. Obdulio Gomes Miguel

CURITIBA

2023

Leite, Daniela Regina Buch

Inibidores da RNA polimerase dependente de RNA em espécies vegetais, atividade antiviral do gênero *Kalanchoe* (Crassulaceae) e avaliação do potencial citotóxico *in vitro* de *Kalanchoe laetivirens* Desc. (Crassulaceae) [recurso eletrônico] / Daniela Regina Buch Leite – Curitiba, 2023.

1 recurso online : PDF

Tese (doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.  
Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2023.

Orientador: Profa. Dra. Marilis Dallarmi Miguel  
Coorientador: Prof. Dr. Obdulio Gomes Miguel

1. Crassulaceae. 2. *Kalanchoe*. 3. Alelopatia. 4. Toxicidade. I. Miguel, Marilis Dallarmi. II. Miguel, Obdulio Gomes. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 583.44



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS  
FARMACÉUTICAS - 40001016042PB

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação CIÊNCIAS FARMACÉUTICAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **DANIELA REGINA BUCH LEITE** intitulada: **INIBIDORES DA RNA POLIMERASE DEPENDENTE DE RNA EM ESPÉCIES VEGETAIS, ATIVIDADE ANTIVIRAL DO GÊNERO KALANCHOE (CRASSULACEAE) E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOTÓXICO in vitro DE Kalanchoe laetivirens DESC. (CRASSULACEAE)**, sob orientação da Profa. Dra. MARILIS DALLARMI MIGUEL, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de doutora está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 12 de Dezembro de 2023.

  
MARILIS DALLARMI MIGUEL  
Presidente da Banca Examinadora

  
LUCIANE DALLARMI  
Avaliador Externo (CENTRO DE ENSINO SUPERIOR DE MARINGÁ -  
CURITIBA)

  
CRISTIANE DA SILVA PAULA DE OLIVEIRA  
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

  
DEISE PREHS MONTRUCCHIO  
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

  
JOSIANE DE FÁTIMA GASPARI DIAS  
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Esse trabalho é dedicado aos meus pais, por todo amor e incentivo.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pela graça da vida, por guiar meus passos, por me dar forças para chegar até aqui e por me conceder eternas bênçãos.

Aos meus pais, Lourival (*in memoriam*) e Tania, por todo amor incondicional, meus exemplos de disciplina e persistência, por sempre me incentivar a estudar. Principalmente, à minha mãe, por todo o amor, pelo apoio constante e pelos cuidados.

À minha amada filha, Milena, que com apenas três anos teve sabedoria suficiente para aceitar a minha ausência em muitos momentos e que apesar disso sempre me inspirou e me deu força para continuar.

Ao meu amado e dedicado esposo, Flávio, parceiro fiel de vida, que esteve presente em todos os momentos do meu doutorado, sempre incentivando e acreditando em mim, por todo amor, pelas ajudas, pela paciência e por me fazer acreditar que ia dar certo.

A todos da minha família que sempre me proporcionaram toda a estrutura e apoio para que eu pudesse crescer. Em especial, aos meus sobrinhos queridos, Vinícius e Filipe, pelo carinho, por sempre tentarem entender como os anticorpos funcionam e como as plantas são importantes.

À Universidade Federal do Paraná pela oportunidade de poder concluir mais uma etapa da minha vida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelo auxílio financeiro.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Paraná pela oportunidade.

À minha orientadora, professora Dra. Marilis Dallarmi Miguel, que acreditou em mim, que me concedeu a imensa oportunidade de tentar em meio a tantos desafios, pela paciência, pela compreensão e por todos os ensinamentos relacionados ao doutorado e a vida.

Ao professor Dr. Obdulio Gomes Miguel, meu coorientador, pela paciência, pelo auxílio com as extrações e por todos os ensinamentos.

À professora Dra. Josiane de Fátima Gaspari Dias, pelo auxílio nos ensaios, nas discussões e análises estatísticas dos resultados e por todos os ensinamentos.

À professora Dra. Deise Prehs Montrucchio pelo auxílio com a redação e revisão dos artigos.

À todos os professores do Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Paraná pelo acolhimento e ensinamentos.

À Solange Pereira Cordeiro pelo apoio, pelo auxílio e colaboração durante desenvolvimento desse trabalho, em especial pela amizade e por me conceder a oportunidade de ser madrinha da preciosa Julinha.

Ao Idonilton da Conceição Fernandes pela parceria, pelo auxílio, pelas conversas durante os dias incertos da pandemia e principalmente pela amizade.

À amiga Andressa Cunha, por ser tão especial e presente na minha vida.

Às doutorandas Elisiane de Bona Sartor, Cíntia Anjos pelo auxílio com as metodologias e revisões. Ao doutorando Cleiber Marcio Flores por me apresentar ao Rayyan.

Ao CAPA, (Centro de Assessoria de Publicação Acadêmica), pela assessoria, revisão do artigo.

Aos técnicos do Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Paraná Gracinha, Paulo, Gustavo e Edneia por toda a ajuda.

Ao Botânico, Mestre Mário Fritsch, pela parceria e pela identificação do material botânico.

Ao Engenheiro Florestal do Museu Botânico Municipal, Marcelo Leandro Brotto pela identificação do material botânico.

Aos funcionários da Biblioteca, da seção de pós-graduação, agradeço pelo auxílio e disposição.

Às professoras Dra. Deise Prehs Montrucchio, Dra. Josiane de Fátima Gaspari Dias, Dra. Luciane Dalarmi e Dra. Cristiane da Silva Paula por terem aceitado compor minha banca de defesa de tese.

E a todos os amigos e colegas que acreditaram na minha competência e ajudaram direta e indiretamente para realização desse objetivo.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo, fará coisas admiráveis.”

**José de Alencar**

## RESUMO

Os metabólitos secundários presentes nas plantas representam um conjunto de possibilidades farmacológicas, a elucidação de moléculas bioativas é essencial para a descoberta de compostos-protótipos. Como muitas espécies ainda não foram estudadas, muitos compostos-protótipos ainda podem ser descobertos. Entre os anos de 2020 a 2023, durante a epidemia global de Covid-19, cientistas do mundo inteiro reuniram esforços à procura de um fármaco antiviral efetivo contra o vírus SARS-CoV-2. Portanto, duas revisões integrativas foram realizadas, uma reuniu compostos vegetais que apresentaram potencial antiviral contra uma das enzimas responsáveis pela replicação viral, a RNA polimerase dependente de RNA. A outra revisão descreveu espécies e derivados vegetais com potencial antiviral presentes no gênero *Kalanchoe*. A espécie *Kalanchoe laetivirens* é considerada pela literatura uma planta ornamental pouco descrita, no entanto algumas espécies do gênero já são conhecidas como plantas medicinais. Com o objetivo de direcionar futuros estudos de bioatividade com o extrato cetônico da espécie *K. laetivirens*, a toxicidade preliminar do extrato bruto foi avaliada por meio de testes *in vitro*. Para isso, primeiramente realizou-se o processo de herborização para facilitar a confirmação da espécie, as folhas foram liofilizadas e o extrato bruto foi obtido por meio da extração em soxhlet. O potencial citotóxico do extrato bruto foi avaliado por meio de testes preliminares, artemia, atividade hemolítica e alelopatia. A toxicidade aguda aos microcrustáceos foi considerada fraca, apresentando CL<sub>50</sub> de 650 µg/mL. Não foi observada hemólise nas concentrações testadas. Porém, o extrato bruto cetônico apresentou alelopatia inibitória em sementes de *Lactuca sativa*. A avaliação preliminar da toxicidade permite verificar a viabilidade da espécie e direcionar os estudos de bioatividade.

Palavras-chave: caracterização fitoquímica; *Kalanchoe*; alelopatia; toxicidade.

## ABSTRACT

The secondary metabolites present in plants represent a set of pharmacological possibilities, the elucidation of bioactive molecules is essential for the discovery of prototype compounds. As many species have not yet been studied, many prototype compounds can still be discovered. Between the years 2020 and 2023, during the global Covid-19 epidemic, scientists from around the world joined forces in search of an effective antiviral drug against the SARS-CoV-2 virus. Therefore, two integrative reviews were carried out, one brought together plant compounds that showed antiviral potential against one of the enzymes responsible for viral replication, RNA-dependent RNA polymerase. The other review described species and plant derivatives with antiviral potential present in the *Kalanchoe* genus. The species *Kalanchoe laetivirens* is considered in the literature to be a poorly described ornamental plant, however some species of the genus are already known as medicinal plants. With the aim of directing future bioactivity studies with the ketone extract of the species *K. laetivirens*, the preliminary toxicity of the crude extract was evaluated through *in vitro* tests. To achieve this, the herborization process was first carried out to facilitate confirmation of the species, the leaves were freeze-dried and the crude extract was obtained through soxhlet extraction. The cytotoxic potential of the crude extract was evaluated through preliminary tests, artemia, hemolysis and allelopathy. Acute toxicity to microcrustaceans was considered weak, with an LC<sub>50</sub> of 650 µg/mL. No hemolysis was observed at the concentrations tested. However, the crude ketone extract showed inhibitory allelopathy in *Lactuca sativa* seeds. The preliminary toxicity assessment makes it possible to verify the viability of the species and direct bioactivity studies.

Keywords: phytochemical characterization; *Kalanchoe*; allelopathy; toxicity.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – ESPÉCIES DA FAMÍLIA CRASSULACEAE .....	27
FIGURA 2 – ENQUADRAMENTO TAXONÔMICO DAS ESPÉCIES <i>K. brasiliensis</i> , <i>K. pinnata</i> e <i>K. laetivirens</i> .....	36
FIGURA 3 – RESUMO GRÁFICO DOS CAPÍTULOS.....	39
FIGURA 4 – FLUXOGRAMA DA METODOLOGIA DA PESQUISA.....	39
FIGURA 5 – PROCESSO DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO DOS ESTUDOS PARA REVISÃO INTEGRATIVA .....	41
FIGURA 6 – PROCESSO DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO DOS ESTUDOS PARA REVISÃO INTEGRATIVA .....	42
FIGURA 7 – LOCAL DE COLETA DO GÊNERO <i>K. laetivirens</i> NO BRASIL .....	44
FIGURA 8 – LIOFILIZADOR .....	45
FIGURA 9 – EXTRAÇÃO DAS FOLHAS DE <i>K. laetivirens</i> EM APARELHO DE SOXHLET MODIFICADO .....	47
FIGURA 10 – CAIXA GERBOX COM SEMENTES DE <i>Lactuca sativa</i> L.....	51
FIGURA 11 – ESTACAS HERBÁCEAS DE <i>K. laetivirens</i> .....	52
FIGURA 12 – ESTACAS HERBÁCEAS DE <i>K. laetivirens</i> IMERSAS EM SUMO.....	53
FIGURA 13 – ANÁLISE QUÍMICA DO SOLO .....	56
FIGURA 14 – PLÂNTULAS E PLANTA ADULTA DE <i>K. laetivirens</i> CULTIVADAS EM VASOS.....	56
FIGURA 15 – CASA DE VEGETAÇÃO.....	57
FIGURA 16 – FOLHAS DE <i>K. laetivirens</i> COM PERDAS DE PLÂNTULAS .....	58
FIGURA 17 – FLORES DE <i>K. laetivirens</i> .....	58
FIGURA 18 – EXSICATA DE <i>K. laetivirens</i> DEPOSITADA NO MUSEU BOTÂNICO MUNICIPAL.....	59
FIGURA 19 - COMPONENTES MAJORITÁRIOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>K. laetivirens</i> .....	63
FIGURA 20 – FOLHAS LIOFILIZADAS DE <i>K. laetivirens</i> .....	64
FIGURA 21 - GERMINAÇÃO DAS SEMENTES DE <i>LACTUCA SATIVA</i> COM EXTRATO DE <i>K. laetiveres</i> .....	68
FIGURA 22 - AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO (%) EM CAIXA GERBOX DE RADÍCULAS, HIPOCÓTILO, FOLÍOLO DE PLÂNTULAS DE <i>Lactuca</i>	

<i>sativa</i> FRENTE A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DO EXTRATO BRUTO CETÔNICO DE <i>K. laetivirens</i> .....	69
FIGURA 23 – AVALIAÇÃO DO ÍNDICE DE VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DE <i>Lactuca sativa</i> FRENTE A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DO EXTRATO DE <i>K. laetivirens</i> .....	70
FIGURA 24 – AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ALELOPÁTICO DO SUMO EM ESTACAS DE <i>K. laetivires</i> .....	71
FIGURA 25 – AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ALELOPÁTICO DO SUMO EM ESTACAS DE <i>K. laetivires</i> .....	71

## LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – TEOR DE UMIDADE E CINZAS (%) DO EXTRATO DE <i>K. laetivirens</i> .....	64
GRÁFICO 2 – AVALIAÇÃO HEMOLITICA DO EXTRATO CETÔNICO DE FOLHAS DE <i>K. laetivirens</i> .....	67

## LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – PRIMEIROS COMPOSTOS BIOATIVOS ISOLADOS DE PLANTAS DE INTERESSE MEDICINAL .....	25
QUADRO 2 – FLAVONOIDES ISOLADOS DO GÊNERO <i>KALANCHOE</i> .....	31

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – RESULTADO DA CROMATOGRAFIA GASOSA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>K. laetivirens</i> .....	60
TABELA 2 – COMPONENTES MAJORITÁRIOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>K.</i> <i>laetivirens</i> .....	61
TABELA 3 – VALORES DE CL <sub>50</sub> (µg/mL) AVALIADOS FRENTE À <i>Artemia salina</i> ..	66

## LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

Anvisa	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CAM	- Metabolismo Ácido das Crassuláceas
CO <sub>2</sub>	- Dióxido de carbono
COVID-19	- Coronavirus disease 2019
COV	- Compostos orgânicos voláteis
CL <sub>50</sub>	- Concentração letal 50%
DL <sub>50</sub>	- Dose letal 50%
DL <sub>90</sub>	- Dose letal 90%
DMSO	- Dimetilsulfóxido
DNA	- Ácido desoxirribonucleico
DPPH	- Composto químico orgânico 2,2-difenil-1-picrilhidrazil
ECB	- Extrato cetônico bruto
EEB	- Extrato etanólico bruto
EPAGRI	- Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina
DF	- Degree of freedom
GC/MS	- Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
GST	- Glutathione S-transferase
IC <sub>50</sub>	- Concentração inibitória de 50%
IR <sub>c</sub>	- Índice de retenção calculado
IR <sub>t</sub>	- Índice de retenção
IVG	- Índice de velocidade de germinação
LCL	- Limite de confiança inferior
MBM	- Museu Botânico Municipal
MDR	- Multidrug resistance
NI	- Não identificados
NLM	- National Library of Medicine
OMS	- Organização Mundial da Saúde
PBS	- <i>Phosphate-buffered saline</i>
RdRp	- RNA-dependent RNA polymerase
Renisus	- Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde

RNA	- Ácido ribonucleico
rpm	- Rotações por minuto
SarCov-2	- Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2
SD	- Standard deviation
pH	- Potencial hidrogeniônico
p/v	- Peso/volume
SNC	- Sistema nervoso central
SUS	- Sistema Único de Saúde
TR	- Tempo de retenção
UCL	- Upper confidence limit

## LISTA DE SÍMBOLOS

>	- Maior que
<	- Menor que
+	- Positivo ou mais
-	- Negativo ou menos
°C	- Grau Celsius
%	- Porcento
+	- Mais
cm	- Centímetro
g	- Grama
g/L	- Grama por Litro
h	- Hora
Kg	- Quilograma
L	- Litro
mg	- Miligrama
mg/mL	- Miligrama por mililitro
mL	- Mililitro
mm	- Milímetros
nm	- Nanometro
µg	- Micrograma
µg/mL	- Micrograma por mililitro
µL	- Microlitro

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>21</b>
1.1 JUSTIFICATIVA .....	22
1.2 OBJETIVOS .....	23
1.2.1 Objetivo geral .....	23
1.2.2 Objetivos específicos.....	23
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>25</b>
2.1 PLANTAS COMO FONTE DE PROTÓTIPOS .....	25
2.2 FAMÍLIA CRASSULACEAE .....	26
2.3 GÊNERO <i>KALANCHOE</i> .....	28
2.4 FITOQUÍMICA E POTENCIAIS TERAPÊUTICOS DE ESPÉCIES DE <i>KALANCHOE</i> .....	31
2.5 CONTRIBUIÇÃO DA ALELOPATIA NA AGRICULTURA.....	37
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>39</b>
3.1 CAPÍTULO 1 - RNA-DEPENDENT RNA POLYMERASE (RDRP) NATURAL ANTIVIRAL INHIBITORS: A REVIEW.....	40
3.2 CAPÍTULO 2 - GENUS <i>KALANCHOE</i> : AN UPDATED REVIEW ON ANTIVIRAL POTENTIAL .....	41
3.3 CAPÍTULO 3 - CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOTÓXICO <i>IN VITRO</i> DO EXTRATO BRUTO DE <i>K. laetivirens</i> DESC.....	43
3.3.1 Cultivo da espécie <i>K. laetivirens</i> .....	43
3.3.2 Obtenção do material botânico para cultivo de <i>K. laetivirens</i> .....	43
3.3.3 Reagentes e solventes utilizados .....	44
3.3.4 Extração e caracterização do óleo essencial de <i>K. laetivirens</i> .....	44
3.3.5 Liofilização.....	44
3.3.6 Teor de umidade e cinzas do material vegetal .....	45
3.3.6.1 Porcentagem de umidade.....	45
3.3.6.2 Cinzas totais .....	46
3.3.7 Obtenção dos extratos brutos de <i>K. laetivirens</i> .....	46
3.3.8 Determinação do teor de sólidos dos extratos brutos de <i>K. laetivirens</i> .....	47
3.3.9 Análise do potencial citotóxico de <i>K. laetivirens</i> .....	48

3.3.9.1 Avaliação do potencial tóxico de <i>K. laetivirens</i> sobre o microcrustáceo <i>Artemia salina</i> Leach .....	48
3.3.9.2 Avaliação da atividade hemolítica do extrato cetônico de <i>K. laetivirens</i> sobre sementes de <i>Lactuca sativa</i> .....	49
3.3.9.3 Avaliação do potencial alelopático do extrato cetônico de <i>K. laetivirens</i> sobre sementes de <i>Lactuca sativa</i> .....	49
3.3.9.4 Avaliação do potencial alelopático do sumo de <i>K. laetivirens</i> em estacas de <i>K. laetivirens</i> .....	51
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>54</b>
4.1 CAPÍTULO 1 - RNA-DEPENDENT RNA POLYMERASE (RDRP) NATURAL ANTIVIRAL INHIBITORS: A REVIEW .....	54
4.2 CAPÍTULO 2 - GENUS <i>KALANCHOE</i> : AN UPDATED REVIEW ON ANTIVIRAL POTENTIAL. ....	54
4.3 CAPÍTULO 3 - CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOTÓXICO <i>IN VITRO</i> DO EXTRATO BRUTO DE <i>K. laetivirens</i> DESC... ..	55
4.3.1 Cultivo da espécie <i>K. laetivirens</i> .....	55
4.3.2 Material vegetal .....	58
4.3.3 Extração e caracterização do óleo essencial de <i>K. laetivirens</i> .....	59
4.3.4 Liofilização.....	63
4.3.5 Teor de umidade e cinzas .....	64
4.3.6 Obtenção e rendimento do extrato bruto de <i>K. laetivirens</i> .....	65
4.3.7 Análise do potencial citotóxico de <i>K. laetivirens</i> .....	65
4.3.7.1 Avaliação do potencial tóxico frente ao microcrustáceo <i>Artemia salina</i> L.....	65
4.3.7.2 Avaliação da atividade hemolítica do extrato cetônico de <i>K. laetivirens</i> .....	66
4.3.7.3 Avaliação do potencial alelopático do extrato cetônico de <i>K. laetivirens</i> sobre sementes de <i>Lactuca sativa</i> .....	67
4.3.7.4 Avaliação do potencial alelopático do sumo de <i>K. laetivirens</i> em estacas de <i>K. laetivirens</i> .....	70
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>75</b>
5.1 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....	75
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>77</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Desde o princípio, os produtos naturais garantem a sobrevivência da humanidade, sendo utilizados para o tratamento de doenças, como fonte de alimentação, na agricultura, para habitação, vestimentas, em objetos utilizados na defesa e ataque, na produção de transportes, em manifestações artísticas, culturais e religiosas. Atualmente, ademais, como material e insumo para as indústrias de medicamentos, vestuários, cosméticos, perfumes, corantes, sanitizantes, conservantes, entre outros (RAMAKRISHNA; RAVISHANKAR, 2011). Muitas espécies vegetais têm sido utilizadas desde os tempos remotos, garantindo a sobrevivência e fazendo parte da evolução humana (CHOPRA; DHINGRA, 2021).

Por meio do conhecimento empírico e através da observação do comportamento dos animais, o homem descobriu as propriedades úteis e nocivas dos vegetais. A origem das primeiras descrições do uso de plantas com fins terapêuticos se deu na Mesopotâmia e datam de 2.600 a.C.. Óleo de cedro (*Cedrus spp.*), alcaçuz (*Glycyrrhiza glabra*), mirra (*Commiphora spp.*), papoula (*Papaver somniferum*), entre muitas outras espécies já eram utilizadas na época (OLIVEIRA *et al.*, 2007; DUTRA *et al.*, 2016; MONTEIRO; BRANDELLI, 2017; RIBEIRO *et al.*, 2017). Os ameríndios já usavam algumas espécies há mais de dez mil anos, como alimento ou remédio, muitas espécies nativas das Américas foram introduzidas na Europa pelos portugueses e espanhóis. Pode-se listar como exemplo as raízes da salsaparrilha (*Smilax spp.*) e do guaiaco (*Guaiacum officinale* L.), nativas do Caribe, muito utilizadas na época para o tratamento da sífilis.

A sabedoria popular ou tradicional sobre o poder curativo das plantas é de importância, normalmente é passada de geração em geração (OLIVEIRA *et al.*, 2007; DUTRA *et al.*, 2016; SIMÕES *et al.*, 2017; SALEHI *et al.*, 2019;). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), grande parte da população de países em desenvolvimento necessita da medicina tradicional nos seus cuidados básicos de saúde. Todavia, existe o uso de plantas com finalidades terapêuticas baseado no conhecimento de senso comum sem dados de uso tradicional associado e tampouco dados científicos. Essa prática pode representar um risco eminente para saúde do indivíduo. Neste caso, muitas vezes acabam recorrendo a “receitas naturais milagrosas” que são amplamente disseminadas, porém substâncias tóxicas como

alcaloides, aminoácidos, amidas, glicosídeos, saponinas e taninos podem estar presentes nesses fitocomplexos e serem responsáveis por intoxicações (OLIVEIRA *et al.*, 2007; MENDONÇA *et al.*, 2019; MARMITT; SHAHRAJABIAN, 2021). Tais substâncias, quando identificadas, isoladas, purificadas podem apresentar sua função biológica compreendida, algumas delas podem sugerir protótipos para novos medicamentos. Isso vem sendo confirmado nos últimos anos nas áreas de ciências farmacêuticas, biologia, química, farmacologia e medicina (KOEHN; CARTER, 2005; LI; VEDERAS, 2009; VALLI *et al.*, 2018; FOLQUITTO *et al.*, 2019; CHOPRA; DHINGRA, 2021). Entre as substâncias biologicamente ativas presentes, podemos citar os aleloquímicos, que também são alvos de muitos estudos. Alguns aleloquímicos são capazes de inibir a germinação, o crescimento e suprimir a colonização micorrízica de plantas. Além disso, podem atuar como agentes defensivos contra herbívoros e patógenos, por isso podem ser de extrema importância na agricultura (MORAIS *et al.*, 2021).

## 1.1 JUSTIFICATIVA

A falta de conhecimento ou a dificuldade de acesso a uma unidade básica de saúde são motivos que levam as pessoas a fazer o uso indevido de plantas. Este hábito pode trazer prejuízo a saúde ou até mesmo permitir o avanço da doença. Muitas atividades biológicas no gênero *Kalanchoe* já foram descritas, demonstrando grande potencialidade farmacológica de algumas espécies. No entanto, a espécie *Kalanchoe laetivirens* é considerada pela literatura uma planta ornamental, pouco descrita, principalmente quanto sua composição e propriedades (FILHO *et al.*, 2005).

Em 2019, a epidemia global de COVID-19 se espalhou rapidamente, fazendo com que profissionais da saúde tivessem que lutar uma batalha sem armas. Mesmo antes de conhecer ao certo todos os efeitos deletérios no organismo humano causados pelo vírus SarCov-2, pesquisadores do mundo todo investiram em pesquisas com o intuito de selecionar um composto antiviral capaz de ser usado para conter os casos de COVID-19. Foi em meio a este cenário, que relacionar inibidores da enzima RNA polimerase dependente de RNA presentes em espécies vegetais se tornou um dos objetivos dessa pesquisa. Os passos seguintes, revisão de compostos antivirais presentes no gênero *Kalanchoe* e avaliação do potencial

citotóxico da espécie *Kalanchoe laetivirens* tiveram como objetivo identificar uma espécie vegetal segura para futuros estudos sobre compostos antivirais.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo geral

Relacionar compostos naturais com potencial antiviral de diferentes espécies vegetais, em espécies de *Kalanchoe* por meio de revisões integrativas e avaliar a toxicidade preliminar do extrato bruto da espécie *Kalanchoe laetivirens*.

### 1.2.2 Objetivos específicos

- Compor a estratégia de busca para iniciar a revisão sobre inibidores naturais da enzima RNA polimerase dependente de RNA;
- Compor a estratégia de busca para relacionar extratos e ou compostos naturais com potencial antiviral em espécies de *Kalanchoe*;
- Levantar junto à literatura os artigos resultantes das buscas realizadas;
- Confrontar os artigos resultantes da triagem inicial entre os revisores;
- Sintetizar e organizar os estudos obtidos de ambas as revisões;
- Identificar e avaliar os desfechos selecionados nos estudos;
- Confeccionar os artigos de revisão, com suas respectivas discussões e considerações finais sobre os assuntos abordados;
- Coletar o material botânico;
- Identificar a espécie *Kalanchoe laetivirens*;
- Cultivar a espécie *Kalanchoe laetivirens*;
- Extrair o óleo essencial das folhas de *Kalanchoe laetivirens*;
- Caracterizar os compostos químicos presentes no óleo essencial de *Kalanchoe laetivirens*;
- Liofilizar as folhas de *Kalanchoe laetivirens*;
- Avaliar parâmetros físico-químicos;
- Obter o extrato bruto a partir das folhas liofilizadas de *Kalanchoe laetivirens*;

- Avaliar o potencial citotóxico preliminar do extrato bruto pelos métodos de *Artemia salina*, hemólise e atividade alelopática;
- Verificar os efeitos alelopáticos do sumo das folhas frescas de *Kalanchoe laetivirens*.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 PLANTAS COMO FONTE DE PROTÓTIPOS

As pesquisas realizadas na área de química de produtos naturais desempenham um papel fundamental no desenvolvimento de novos fármacos. Por meio de técnicas simples, mas extremamente eficientes, é possível caracterizar e isolar compostos produzidos a partir do metabolismo secundário de plantas, animais e microrganismos. Para concluir com sucesso um processo de extração, devemos ter informações básicas do nosso composto de interesse, tais dados direcionam a escolha do método e do solvente (SIMÕES *et al.*, 2017; KRAMBECK *et al.*, 2020). Foi no início do século XIX que compostos bioativos começaram a ser isolados de plantas, (DONATO *et al.*, 2020) é possível verificar alguns exemplos de fontes vegetais e suas respectivas substâncias isoladas (QUADRO 1) (DUTRA *et al.*, 2016).

QUADRO 1 – PRIMEIROS COMPOSTOS BIOATIVOS ISOLADOS DE PLANTAS DE INTERESSE MEDICINAL

Ano	Espécie	Isolado
1806	<i>Papaver somniferum</i>	Morfina
1820	<i>Coffea arábica</i>	Cafeína
1824	<i>Papaver somniferum</i>	Codeína
1831	<i>Atropa belladonna</i>	Atropina
1832	<i>Salix Alba</i>	Salicina
1848	<i>Papaver somniferum</i>	Digoxina
1849	<i>Digitalis lanata</i>	Papaverina
1943	<i>Chondrodendron tomentosum</i>	Curare

FONTE: DUTRA *et al.* (2016).

Os compostos naturais, presentes na biodiversidade, muitas vezes são moléculas complexas provenientes de processos evolutivos (CHEN; KIRCHMAIR, 2020). Já na década de 1960 o interesse dos pesquisadores por produtos naturais teve uma diminuição, devido ao longo processo para isolar e elucidar as moléculas.

Tal processo se tornava inviável muitas vezes relacionado a custos e quantidades insuficientes para dar continuidade aos estudos necessários. A investigação de novos protótipos voltou a crescer com os avanços tecnológicos que facilitam a triagem biológica, técnicas diversas que possibilitam o isolamento e elucidação estrutural de moléculas (SIMÕES *et al.*, 2017). Como técnicas mais eficientes, podemos citar extração assistida por micro-ondas, extração assistida por enzimas, extração por campo elétrico pulsado (KRAMBECK *et al.*, 2020). Atualmente, a quimioinformática é uma área que vem crescendo, com o objetivo de aperfeiçoar o tempo de triagem de moléculas protótipos. Por meio de softwares, por exemplo, pesquisadores conseguem prever moléculas mais simples, mas que contenham a parte estrutural responsável por uma dada atividade biológica (CHEN; KIRCHMAIR, 2020).

A biodiversidade tem sido a base para o progresso da nossa sociedade, seu valor é incalculável (BRASIL, 2023). A preservação do meio ambiente atrelado ao investimento em cultivo de espécies vegetais pode fornecer contribuições aos diferentes setores econômicos (primário, secundário e terciário). É possível citar como exemplos, a contribuição com o sustento de pequenos agricultores, o desenvolvimento de agroquímicos, corantes, fragrâncias, cosméticos, suplementos alimentares (VALLI *et al.*, 2018; FAJINMI *et al.*, 2023).

Pesquisadores sugerem incentivos a programas de pesquisas, políticas públicas em preservação, desenvolvimento do mercado de medicamentos derivados de plantas no Brasil que resulte na parceria entre universidades e indústrias farmacêuticas (VALLI *et al.*, 2018; FAJINMI *et al.*, 2023).

## 2.2 FAMÍLIA CRASSULACEAE

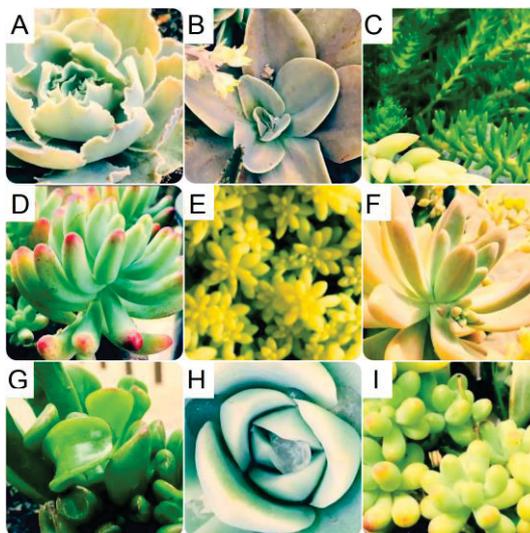
As Crassuláceas são suculentas, herbáceas ou subarborescentes e compõem uma grande família de dicotiledôneas (MILAD *et al.*, 2014). Crescem em ambientes áridos e em rochas e isso se deve por apresentarem o metabolismo ácido das crassuláceas, ciclo CAM (Metabolismo Ácido das Crassuláceas) (SINGH, 2010; EID *et al.*, 2018; RANZATO FILARDI *et al.*, 2018; MIZUNO *et al.*, 2022).

O metabolismo ácido das crassuláceas é uma estratégia que foi desenvolvida por algumas espécies durante a seleção natural e mantém a fotossíntese mesmo em condições de escassez de água (BURGOS *et al.*, 2022).

Dessa maneira, as plantas que desenvolvem o ciclo CAM permanecem com os estômatos fechados durante o dia, reduzindo assim a perda de água. Durante a noite os estômatos se abrem, o CO<sub>2</sub> é fixado e transformado em oxaloacetato pela enzima fosfoenolpiruvato carboxilase. O oxaloacetato é transformado em malato pela enzima malato desidrogenase. O malato formado é armazenado em enormes vacúolos (característica anatômica comum), a noite acontece uma acidificação das folhas pelo acúmulo de ácido málico, que é descarboxilado pela enzima NADP-málica durante o dia quando os estômatos estão fechados, o CO<sub>2</sub> é liberado do malato e refixado pela enzima RuBisCo e convertido em carboidrato por meio do ciclo de Calvin (GILMAN; EDWARDS, 2020; LAWSON *et al.*, 2022; SHANKER *et al.*, 2022).

Por realizarem o metabolismo ácido das crassuláceas, as plantas dessa família apresentam folhas e ramos carnosos, com grande reserva de água, além disso, possuem uma cutícula de cera espessa que cobre a epiderme, contribuindo também para redução da evaporação de água. Tais características favorecem a adaptação das espécies em diferentes tipos de climas, desde regiões tropicais até regiões com clima temperado. Suas folhas simples chamam a atenção por apresentarem diferentes formas, cores e texturas, suas flores são actinomórficas, hermafroditas e geralmente cimosas (FIGURA 1) (SINGH, 2010; RANZATO FILARDI *et al.*, 2018; JIN *et al.*, 2022).

FIGURA 1 – ESPÉCIES DA FAMÍLIA CRASSULACEAE



Nota: A, B e H – *Echeveria* sp; C, D, E, F e I – *Sedum* sp; G – *Crassula* sp.

FONTE: O autor (2023).

A família Crassulaceae não é endêmica do Brasil, mas apresenta distribuição confirmada na região Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul do Brasil (RANZATO FILARDI *et al.*, 2018). Suas espécies estão distribuídas em todo o mundo, exceto Austrália e Ilhas do Pacífico (SINGH, 2010; JIN *et al.*, 2022; MIZUNO *et al.*, 2022; ANDRADE *et al.*, 2023).

Na família crassulaceae, o gênero *Sedum* é o maior, apresenta 428 espécies (EID *et al.*, 2018), ao todo são 36 gêneros e mais de 1400 espécies presentes na família (ANDRADE *et al.*, 2023). Outros importantes gêneros fazem parte dessa família: *Aeonium*, *Crassula*, *Dudleya*, *Echeveria*, *Kalanchoe*, *Rhodiola*, *Sempervivum* e *Tylecodon*. Suas espécies são comumente utilizadas para fins ornamentais, porém também tem sido relatado o seu uso na medicina tradicional. Várias atividades biológicas já foram citadas na família, entre elas atividade antioxidante, anti-hiperglicêmica, antimicrobiana, antiulcerogênica, citotóxica, anticancerígena, antiinflamatória e antinociceptiva, hepatoprotetora, analgésica, antiartrítica, antimalárica, antimutagênica, inseticida e anti-hipertensiva (EID *et al.*, 2018; ANDRADE *et al.*, 2023). A espécie *Sedum bulbiferum* foi citada por ser útil na indústria cosmética, apresentou capacidade de clarear e hidratar a pele (WARASHINA; MIYASE, 2017). A família Crassulaceae foi descrita como uma rica fonte de compostos fenólicos (EID *et al.*, 2018).

### 2.3 GÊNERO *Kalanchoe*

Pertencente à família Crassulaceae, o gênero *Kalanchoe* Adans. Inclui aproximadamente 179 espécies, são plantas perenes encontradas em áreas tropicais (ANDRADE *et al.*, 2023; NASCIMENTO *et al.*, 2023; STEFANOWICZ-HAJDUK *et al.*, 2023). A maioria chama a atenção por sua estrutura xeromórfica (MILAD *et al.*, 2014) e foi descrita pela primeira vez em 1763 por Michel Adanson (ANDRADE *et al.*, 2023; IPNI, 2023). Por vezes é mencionado seu sinônimo, *Bryophyllum* Salisb. (MILAD *et al.*, 2014; ANDRADE *et al.*, 202), descrito pela primeira vez por Richard Anthony Salisbury em 1805 (IPNI, 2023).

Espécies pertencentes a esse gênero são nativas de Madagascar, África continental, se estendendo da Arábia ao Sudeste Asiático (CURREY; ERWIN, 2011; ZAWIRSKA-WOJTASIAK *et al.*, 2019; VARGAS *et al.*, 2022; STEFANOWICZ-HAJDUK *et al.*, 2023), ÍNDIA E BRASIL (MILAD *et al.*, 2014; ZAWIRSKA-

WOJTASIAK *et al.*, 2019; STEFANOWICZ-HAJDUK *et al.*, 2023), devido ao seu valor ornamental são amplamente comercializadas, utilizadas na horticultura e foram aos poucos sendo introduzidas em todo o mundo (VARGAS *et al.*, 2022; ANDRADE *et al.*, 2023).

A reprodução vegetativa ocorre tanto sexualmente quanto por meio de plântulas localizadas ao longo da borda das folhas (MCCREADY *et al.*, 2022). Devido à presença desses pequenos indivíduos clonais, algumas espécies são conhecidas popularmente como “mãe de milhares” ou “mãe de milhões” (AKULOVA-BARLOW, 2009; CURREY; ERWIN, 2011; MCCREADY *et al.*, 2022; ANDRADE *et al.*, 2023), podem ser conhecidas também por aranto, flor-da-fortuna, calanchoê, calandiva (FERREIRA, *et al.*, 2021). A propagação por meio de plântulas que caem facilmente das folhas envolve os processos de embriogênese e organogênese, onde uma única célula vegetal pode dar origem a uma planta inteira (SU *et al.*, 2021; MCCREADY *et al.*, 2022). No gênero *Kalanchoe*, o mecanismo responsável pela capacidade das células somáticas vem se tornar células totipotentes não está definido, mas sabe-se que envolve processos complexos (vias de sinalização integrada a fotoperíodo e hormônios) e que é resultado da capacidade adaptativa dessas plantas frente a condições ambientais, como estresse hídrico, disponibilidade de nutrientes, duração do dia (MCCREADY *et al.*, 2022). Tal característica foi responsável pela origem do nome *Kalanchoe*, que é a transcrição fonética de “*Kalan Chauhuy*”, que significa “o que cai e cresce” (ANDRADE *et al.*, 2023). Outra interpretação para o nome do gênero vem das palavras utilizadas pelos índios brasileiros, “*kalanka*” e “*chaya*” que significa ferrugem e brilho, respectivamente, referindo-se à cor avermelhada das raízes, principalmente das suas pontas, devido à pigmentação de antocianinas (MILAD *et al.*, 2014) e as folhas brilhantes das espécies (ANDRADE *et al.*, 2023).

Predominantemente, as folhas são opostas, suculentas, denteadas a crenadas, apresentam em média de 10 a 20 cm de comprimento, podem apresentar-se aglomeradas nas pontas dos galhos como na espécie *K. beharensis* (conhecida popularmente como orelha de elefante) ou dispostas em rosetas em caules que se espalham lateralmente como na espécie *K. sinsepala* (AKULOVA-BARLOW, 2009; ANDRADE *et al.*, 2023). A coloração das folhas pode variar bastante entre as espécies, como exemplo, *K. blossfeldiana* apresenta folha verde-escura brilhante (GARCIA-SOGO *et al.*, 2010; ANDRADE *et al.*, 202); *K. daigremontiana* verde

escura com manchas marrom-púrpura (ANDRADE *et al.*, 2023; ZAWIRSKA-WOJTASIAK *et al.*, 2019); *K. delagoensis* arroxeadas escuras (CASANOVA *et al.*, 2020; ANDRADE *et al.*, 2023); *K. laciniata* verde claro (CRUZ *et al.*, 2012; ANDRADE *et al.*, 2023); *K. laxiflora* multicoloridas, suas folhas ficam verdes em ambiente sombreado e rosa ou roxas sob sol forte (AKULOVA-BARLOW, 2009; ANDRADE *et al.*, 2023); *K. marmorata* azul esverdeada com manchas roxas (AKULOVA-BARLOW, 2009; ANDRADE *et al.*, 2023); *K. tomentosa* prateadas (AKULOVA-BARLOW, 2009; ANDRADE *et al.*, 2023). O caule, assim como as folhas são estruturas carnosas devido ao tecido parenquimatoso (MILAD *et al.*, 2014) e ambas as partes vegetais são cobertas por paredes celulares finas, impregnadas com resina (ANDRADE *et al.*, 2023).

As plantas desse gênero muitas vezes apresentam uma aparência incomum e atraente (MILAD *et al.*, 2014), são robustas e resistentes, por isso são consideradas ornamentais (MILAD *et al.*, 2014; VARGAS *et al.*, 2022). Além disso, as flores agrupadas em cachos acima da folhagem (GARCIA-SOGO *et al.*, 2010; ANDRADE *et al.*, 2023), coloridas e o fácil cultivo chamam a atenção de floristas e por isso muitas espécies de *Kalanchoe* são amplamente utilizadas na jardinagem (CURREY; ERWIN, 2011; VARGAS *et al.*, 2022). Alguns membros do gênero são exóticos, ademais, devido aos propágulos existentes nas folhas de muitas espécies e ao seu metabolismo, se disseminam e se adaptam facilmente em diferentes habitats, o que as torna invasoras (ANDRADE *et al.*, 2023). Os processos de disseminação, adaptação por espécies de *Kalanchoe*, comumente são seguidos de expansão e saturação, completando assim todas as fases de desenvolvimento da invasão por uma espécie. Fato que se torna uma ameaça a biodiversidade global, pois essas espécies acabam inibindo o crescimento e abundância de outros organismos de um ecossistema e podem alterar as propriedades dos solos (HERRERA *et al.*, 2012). A *K. tubiflora* foi descrita como planta invasora na Austrália, a *K. daigremontiana* nos Estados Unidos, Porto Rico, Ilhas Baleares, Austrália, Venezuela e foi descrita como uma planta invasora nociva em zonas áridas (VARGAS *et al.*, 2022). O que favorece a invasão da *K. daigremontiana* em certos lugares é a falta de herbívoros que se alimentam dessa espécie (HERRERA *et al.*, 2012). Outra espécie exótica invasora é a *K. x houghtonni*, é um organismo híbrido artificial criado na década de 1930 nos Estados Unidos, durante um cruzamento

experimental entre *K. daigremontiana* e *K. tubiflora* (HERRANDO-MORAIRA *et al.*, 2020).

## 2.4 FITOQUÍMICA E POTENCIAIS TERAPÊUTICOS DE ESPÉCIES DE *Kalanchoe*

Os principais benefícios terapêuticos descritos na literatura, como antibacteriano, antivirais, antifúngicas, antioxidante, antitumoral, antiinflamatório podem ser explicados pela presença majoritária de polifenóis em espécies de *Kalanchoe* (WANG *et al.*, 2013; FERNANDES *et al.*, 2016; KOUITCHEU MABEKU *et al.*, 2017; DE ARAUJO *et al.*, 2018; BOGUCKA-KOCKA *et al.*, 2018; EID *et al.*, 2018; FONSECA *et al.*, 2018; MAYORGA *et al.*, 2019; ANDRADE *et al.*, 2023).

Os principais metabólitos secundários isolados de *Kalanchoe* pertencem às classes de flavonoides e glicosídeos cardíacos, ao todo já foram isolados 124 compostos químicos do gênero, no entanto até o momento poucas espécies foram avaliadas em relação aos seus potenciais terapêuticos. Os flavonoides foram encontrados em extratos aquosos, etanólicos, hidroetanólicos, metanólicos de partes aéreas (QUADRO 2) (ANDRADE *et al.*, 2023).

QUADRO 2 – FLAVONOIDES ISOLADOS DO GÊNERO *KALANCHOE*

Compostos	Espécies
Quercetin	<i>K. pinnata</i> ; <i>K. delagoensis</i> ; <i>K. blossfeldiana</i> ; <i>K. mortagei</i> ; <i>K. fedtschenkoi</i> ; <i>K. daigremontiana</i> ; <i>K. longiflora</i> ; <i>K. ceratophylla</i>
quercetin 3-O- $\beta$ -glucoside (quercetin 3-O-glucoside; isoquercetin; isoquercetrin)	<i>K. pinnata</i> ; <i>K. blossfeldiana</i> ; <i>K. daigremontiana</i> ; <i>K. delagoensis</i>
quercetin 3-O- $\beta$ -D-glucuronopyranoside (miquelianin)	<i>K. pinnata</i>
quercetin 3-O-rhamnoside (quercitrin) quercetin-3-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside	<i>K. pinnata</i> ; <i>K. delagoensis</i> ; <i>K. longiflora</i> ; <i>K. ceratophylla</i> ; <i>K. blossfeldiana</i> ; <i>K. daigremontiana</i>
quercetin 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside	<i>K. pinnata</i>
quercetin 3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside	<i>K. pinnata</i>
quercetin 3-O-rutinoside (rutin) Kaempferol	<i>K. pinnata</i> ; <i>K. delagoensis</i> ; <i>K. pinnata</i> ; <i>K. fedtschenkoi</i> ; <i>K. longiflora</i> ; <i>K. Ceratophylla</i>
kaempferol 3,7-O-dirhamnoside (kaempferitrin) kaempferol 3-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-	<i>K. daigremontiana</i>

Compostos	Espécies
rhamnopyranoside-7-O-β-D-glucopyranoside (daigremontriose)	
kaempferol 7-O-rhamnoside	<i>K. delagoensis</i> ; <i>K. longiflora</i>
kaempferol 3-O-β-D-xylopyranosyl-(1→2)-α-L-rhamnopyranoside (kaempferol 3-O-xylosyl-rhamnoside)	<i>K. pinnata</i> ; <i>K. daigremontiana</i>
kaempferol 3-O-galactoside (trifolin)	<i>K. delagoensis</i>
kaempferol 3-rutinoside (nicotiflorin)	<i>K. pinnata</i> ; <i>K. longiflora</i>
kaempferol-3-O-robinoside-7-O-rhamnoside (robinin)	<i>K. delagoensis</i> ; <i>K. longiflora</i>
kaempferol 3-O-α-L-arabinopyranosyl (1→2)-α-L-rhamnopyranoside (kapinnatoside)	<i>K. pinnata</i>
kaempferol 3-O-α-L-(2-O-acetyl) rhamnopyranoside 7-O-α-L-rhamnopyranoside kaempferol 3-O-α-L-(3-O-acetyl) rhamnopyranoside 7-O-α-L-rhamnopyranoside kaempferol 3-O-α-L-(4-O-acetyl) rhamnopyranoside 7-O-α-L-rhamnopyranoside kaempferol 3-O-α-D-glucopyranoside 7-O-α-L-rhamnopyranoside afzelin (kaempferol 3-O-α-L-rhamnopyranoside) α-rhamnoisorobin (kaempferol 7-O-α-L-rhamnopyranoside)	<i>K. pinnata</i>
4',5-dihydroxy-3',8-dimethoxyflavone 7-O-β-D-glucopyranoside	<i>K. pinnata</i>
eupafolin (6-methoxyluteolin)	<i>K. ceratophylla</i>
eupafolin 4'-O-rhamnoside	<i>K. ceratophylla</i>
4'-methoxyherbacetin	<i>K. delagoensis</i>
kalambroside A kalambroside B kalambroside C patuletin 3-O-(4'-O-acetyl-α-L-rhamnopyranosyl)-7-O-(3'-O-acetyl-α-L-rhaminopyranoside) patuletin 3-O-α-L-rhamnopyranosyl-7-O-(3'-O-acetyl-α-L-rhaminopyranoside)	<i>K. laciniata</i>
myricetin 3-O-α-L-arabinopyranosyl-(1→2)-α-L-rhamnopyranoside myricitrin (myricetin 3-O-α-L-rhamnopyranoside) diosmine (diosmetin 7-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside) acacetin 7-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside	<i>K. pinnata</i>
Luteolin	<i>K. ceratophylla</i> ; <i>K. pinnata</i>

Compostos	Espécies
luteolin 7-O-β-D-glucoside	<i>K. pinnata</i>

FONTE: ANDRADE *et al.* (2023).

Algumas espécies de *Kalanchoe* são popularmente destacadas por suas propriedades medicinais e por isso são relatadas como folhas milagrosas (ANDRADE *et al.*, 2023). A *K. pinnata* e *K. brasiliensis* são as mais utilizadas na medicina tradicional. A *K. pinnata* tem folha crenada bem definida enquanto a *K. brasiliensis* apresenta margem foliar subcrenada, essa é a principal característica que permite diferenciar as espécies, porém a distinção não é fácil para pessoas que não são especializadas (FERNANDES *et al.*, 2016).

Estudos fitoquímicos revelaram a presença predominante de flavonoides glicosilados derivados da aglicona patuletina, com potenciais antioxidantes e antibacterianos, calambrosídeos A, B e C foram descritos pela primeira vez em extratos de partes aéreas de *K. brasiliensis*, bem como patuletina 3-O-α-L-ramnopiranosil-7-O-α-L-ramnopiranosídeo (marcador químico do extrato hidroetanólico), glicosídeos flavonoides derivados da eupafolina, quercetina-O-hexosídeo-O-desoxihexosídeo, dimalato de *kalanchosina* (MAYORGA *et al.*, 2019).

O extrato hidroetanólico de folhas de *K. brasiliensis* coletadas durante a primavera e verão apresentou resultados promissores contra cepas de *Salmonella*, o extrato foi capaz de inibir o crescimento bacteriano (ação bacteriostática) (MAYORGA *et al.*, 2019).

A atividade antimicrobiana e antifúngica do extrato e do óleo essencial de *K. brasiliensis* foi testada frente a diversas amostras bacterianas e amostras de fungos leveduriformes, do gênero *Candida*. Os microrganismos foram isolados de um ambiente hospitalar, tanto o extrato hidroalcoólico quanto o óleo essencial foram capazes de inibir algumas cepas bacterianas. O extrato foi eficiente frente a duas amostras e óleo essencial apresentou atividade em um número maior de amostras. As amostras referentes aos gêneros *Streptococcus*, *Candida* e as bactérias gram-negativas foram resistentes as substâncias testadas. No entanto, os resultados descritos são relevantes, levando em consideração que todas as amostras testadas se tratavam de cepas multirresistentes (DA SILVA *et al.*, 2009).

Fonseca e colaboradores (FONSECA *et al.*, 2018), avaliaram a toxicidade *in vivo* e *in vitro* do extrato hidroetanólico das folhas de *Kalanchoe brasiliensis*. As

análises *in vivo* demonstraram que o extrato tem um baixo efeito tóxico agudo. Através dos achados histológicos, toxicidade subcrônica, concluiu-se baixa toxicidade relativa. No entanto, os autores concluíram que são necessários mais estudos sobre sua toxicidade para garantir sua segurança e posterior uso como fitoterápicos.

Sucos de folhas das espécies *K. brasiliensis* e *K. pinnata* foram analisados em modelos de lesões gástricas agudas. Realizou-se a caracterização química e a análise biológica, onde ratos Wistar foram pré-tratados por via oral com suco (125, 250 e 500 mg/kg) e ranitidina (50 mg/kg). Os resultados obtidos foram significativos, o suco de folhas de *K. brasiliensis* e *K. pinnata* protegeu a mucosa de ratos contra o dano gástrico da indometacina e do etanol (DE ARAUJO *et al.*, 2018).

Inúmeras atividades farmacológicas foram descritas na literatura para a espécie *K. pinnata*, como imunomodulador, depressor do SNC, analgésico, antimicrobiano, antiinflamatório, antialérgico, antianafilático, antileishmania, antitumoral, antiulceroso, antibacteriano, antifúngico, anti-histamínico, antiviral, febrífugo, gastroprotetor, imunossupressor, inseticida, relaxante muscular, sedativo e anticâncer (HERNADEZ *et al.*, 2004; Pattewar, 2012; MILAD *et al.*, 2014). Seus benefícios terapêuticos foram reconhecidos e a espécie *Kalanchoe pinnata* é atualmente utilizada na medicina Ayurveda, Tradicional Chinesa e antroposófica (NASCIMENTO *et al.*, 2023; PAUL *et al.*, 2023). Além disso, no Brasil, a espécie foi incluída na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (Rennisus) (FERNANDES *et al.*, 2016; DE ARAÚJO *et al.*, 2019; BRASIL 2019b;).

O extrato metanólico de *K. pinnata* foi capaz de inibir o crescimento de *Helicobacter pylori* e também atuar como antioxidante na proteção e recuperação da mucosa gástrica (KOUITCHEU MABEKU *et al.*, 2017).

A *K. pinnata* foi testada em relação à atividade antiofídica, o estudo sugeriu seu uso como um possível adjuvante no tratamento contra lesões inflamatórias e hemorrágicas locais induzidas pelo veneno de *Bothrops jararaca* (FERNANDES *et al.*, 2016).

O potencial da *K. pinnata* como adjuvante no tratamento de câncer foi avaliado, os dados obtidos foram promissores, mostraram que fitoquímicos da espécie contribuem para a regulação do tumor em diferentes fases. Os autores sugeriram também que a planta apresenta potencial para atuar como droga

epigenética, entre os resultados obtidos foi visto que o ácido gálico foi capaz de inibir a DNA-metiltransferase 1 (responsável pela metilação do DNA) e o ácido p-cumárico inibiu as histonas desacetilases (HERNÁNDEZ-CABALLERO *et al.*, 2022).

Pesquisadores mostraram que o extrato aquoso de folhas de *K. pinnata* apresentou atividade anticonvulsivante e sedativa (YEMITAN; SALAHDEEN, 2005). Em outro estudo, a atividade anticonvulsivante foi avaliada no extrato metanólico do caule e da raiz de *K. pinnata*, foi identificado alcaloides e esteróis na raiz, terpenos e esteróis no caule. Os dois extratos exerceram atividade anticonvulsivante no modelo de indução de convulsões por pentilenotetrazol, o extrato do caule foi tão efetivo quanto ao resultado obtido do diazepam (controle positivo), o resultado foi associado à presença de esteróis ( $\beta$ -sitosterol e estigmasterol) em ambos os extratos (MORA-PEREZ; HERNANDEZ-MEDEL, 2016).

O potencial antiurolitiático dos extratos hidroalcoólicos das folhas de *K. pinnata* foi avaliado em ratos, como resultado foi concluído que a administração do extrato pode ajudar a diminuir e evitar a deposição de cristais de oxalato de cálcio nos rins em fases iniciais (PANDHARE *et al.*, 2021). Outro estudo avaliou potencial de inibição de cristais de oxalato de cálcio *in vitro* pela fração de acetato de etila da planta inteira de *K. pinnata* e novamente resultados promissores foram verificados (SOHGAURA *et al.*, 2018).

Na *K. pinnata* estudos revelaram a presença de 218 componentes, os principais foram flavonóis glicosídicos, entre eles quercetina e kaempferol, seguidos de fenilpropanóides, derivados do ácido gálico, derivados do ácido benzóico e glicosídeos de álcool acíclicos e proantocianidinas (STEFANOWICZ-HAJDUK *et al.*, 2023). A luteína é um carotenóide que demonstrou potencial antiviral (LEITE *et al.*, 2022) e também está presente na espécie *K. pinnata*.

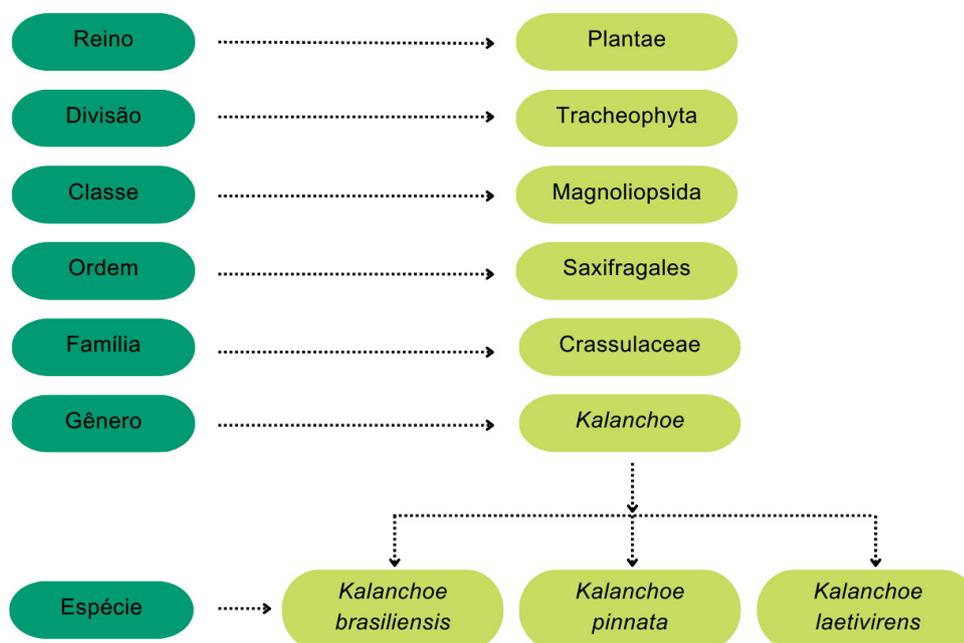
Na espécie *K. pinnata*, estudos fitoquímicos revelaram a presença de compostos fenólicos, bufadienólídeos (bersaldegina briofilina a, briofilina c), vitaminas (ácido ascórbico, riboflavina, tiamina e niacina), alcaloides, taninos, triterpenos, glicosídeos, flavonoides (quercetina, quercitrina, isorhamnetina, kaempferol), cardienólídeos, esteróides (estigmasterol, campesterol), lipídios, polifenóis (ácido gálico, ácido caféico, ácido cumárico), licopenos,  $\beta$ -carotenos, magnésio, cálcio, potássio, fósforo, sódio e microelementos como ferro e zinco (PATTEWAR, 2012; ZAWIRSKA-WOJTASIAK *et al.*, 2019; HERNÁNDEZ-CABALLERO *et al.*, 2022).

A *Kalanchoe laetivirens*, é uma suculenta incomum, pouco descrita, nativa de Madagascar, introduzida primeiramente em Cuba (SCIENCE, 2023).

Citada pela primeira vez por Bernard Descoings, em Le Journal de Botanique de La Société de botanique de France, em 1997 (PERSÉE, 2023). *Bryophyllum laetivirens* (Desc.) VV Byalt. é o sinônimo da espécie. *Kalanchoe laetivirens*, pertence à família Crassulaceae (FIGURA 2), é uma planta bienal, demora 24 meses para completar seu ciclo, é subarbusto que cresce preferencialmente em regiões tropicais sazonalmente secas (SCIENCE, 2023).

A planta é inteiramente glabra, apresenta caule simples, não ramificado, cilíndrico. As folhas opostas, peciolada, regularmente oblonga a elíptica ou ovadas, podem medir 7-15 cm de comprimento e 4-7 cm de largura, apresenta plântulas em abundância ao redor das bordas serrilhadas. A coloração das folhas é verde claro uniforme, azulada, com margens por vezes um pouco rosadas quando expostas a luz solar (PERSÉE, 2023).

FIGURA 2 – ENQUADRAMENTO TAXONÔMICO DAS ESPÉCIES *K. brasiliensis*, *K. pinnata* e *K. laetivirens*



FONTE: Tropicos (2024).

A espécie apresenta inflorescência na parte terminal, corimbiforme, multiflora, pendente, cor rosa levemente arroxeada e anteras pretas (PERSÉE, 2023).

A *K. laetivirens* cresce mais lentamente, comparada com outras espécies do mesmo gênero e exige um inverno mais quente. Apresentam poucos dados científicos em relação a sua composição e efeitos terapêuticos, diferente de outras espécies do gênero, o uso tradicional não está associado especificamente a esta espécie (ANDRADE *et al.*, 2023).

A resistência a múltiplos fármacos (MDR) pode ser citada como um dos grandes desafios da quimioterapia no tratamento de alguns tipos de neoplasias. O mecanismo pode ser observado em células tumorais, *in vivo* e *in vitro*, e como consequência a ausência de resposta aos quimioterápicos (HUBER *et al.*, 2010). Levando esta problemática em consideração, o extrato de *Bryophyllum laetivirens* foi testado frente a linhagens de células malignas humanas (A549 - câncer de pulmão), como resultado observou-se a apoptose das células. Possíveis mecanismos moleculares foram levantados, como inibição de glicoproteína-P (P-gp) mediada pela supressão da expressão e atividade do NF-κB. A glicoproteína-P encontra-se presente na superfície celular e é responsável pelo efluxo de agentes quimioterápicos do interior das células (KAEWPIBOON *et al.*, 2014).

A presença do composto 3,7-di-O-ramnosil-cianidina foi verificada predominantemente na fase aquosa do extrato de *K. laetivirens* (FERREIRA, 2021).

Em um estudo, foi identificado conteúdo fenólico no extrato hidroalcoólico de *K. laetivirens*, este apresentou capacidade de estabilização oxidativa em amostras de biodiesel (DA SILVA *et al.*, 2022).

## 2.5 CONTRIBUIÇÃO DA ALELOPATIA NA AGRICULTURA

A evolução das espécies envolve relações mutualísticas, simbióticas, negativas, competitivas e parasitárias. Essas relações contribuem com o surgimento de novas vias metabólicas secundárias, consequentemente com uma vasta gama de moléculas biologicamente ativas que garantem a sobrevivência das espécies (DAYAN; DUKE, 2014).

O maior desafio para a agricultura é encontrar substâncias alternativas que sejam eficazes no manejo de doenças e pragas, além disso, que apresentem baixas

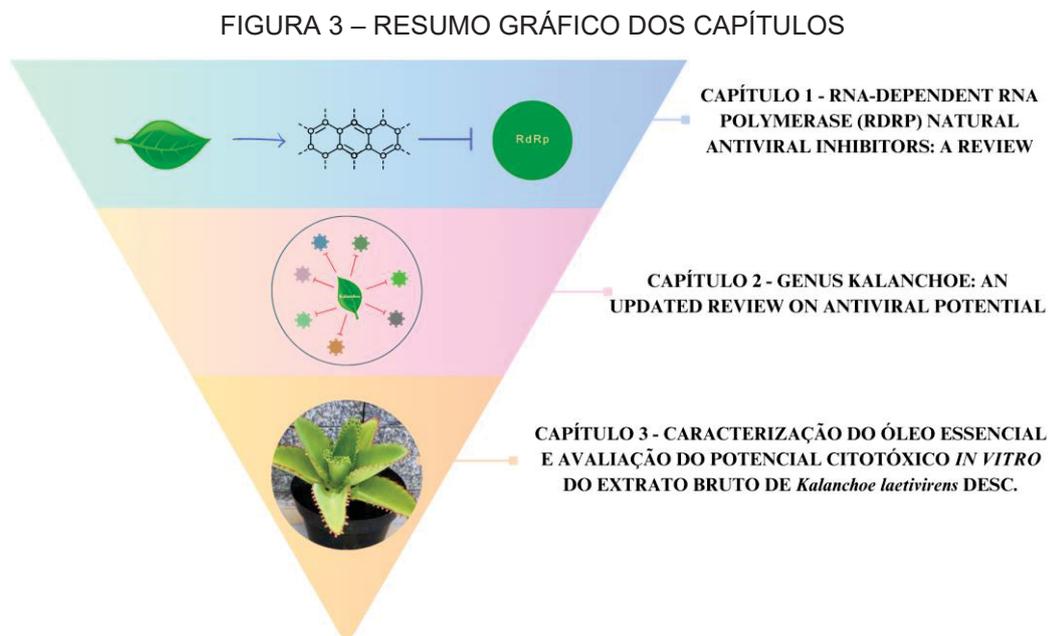
ou nenhuma toxicidade ao homem e a natureza. Um dos problemas enfrentados é o controle de plantas daninhas, que demanda uma grande quantidade de herbicidas sintéticos. Por fim, esse problema resulta na seleção de plantas daninhas resistentes, prejuízos na saúde do homem e animais, contaminações do solo e ainda a perda da biodiversidade (DAYAN; DUKE, 2014; MANGAO *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2020).

As plantas daninhas se tornam invasoras nos agroecossistemas como resultado de uma competição que é estabelecida inicialmente por uma guerra química entre plantas, o que podemos chamar de alelopatia (SILVA *et al.*, 2020). Em 1937, o pesquisador alemão Hans Molisch descreveu a alelopatia como sendo a interação bioquímica, efeitos inibitórios ou estimulatórios, existente entre plantas e microrganismos (RICE, 1985). Essa interação bioquímica pode resultar na inibição do crescimento de uma das plantas e por fim a planta predominante ganha força ao diminuir os nutrientes do solo (XIE *et al.*, 2019). Aspectos gerais relacionados com a ecologia das plantas são afetados através da alelopatia, como crescimento, sucessão de plantas, estrutura das comunidades, dominância, diversidade e produtividade (DE OLIVEIRA *et al.*, 2012).

Na natureza, os aleloquímicos produzidos são liberados a partir de diferentes processos, como na volatilização, lixiviação, exsudação de raízes, decomposição de partes vegetais e de serrapilheira (MWENDWA *et al.*, 2022). Os estudos que avaliam as habilidades alelopáticas de extratos vegetais surgem na tentativa de tirar proveito de toxinas liberadas por plantas invasoras (XIE *et al.*, 2019; MANGAO *et al.*, 2020). A diversidade estrutural e a evolução da atividade biológica dos aleloquímicos oferecem oportunidade para o desenvolvimento tanto de compostos naturais usados diretamente quanto de herbicidas sintéticos com novos locais-alvo (BOZARI *et al.*, 2012). Os alcaloides, pigmentos antibióticos, micotoxinas, fatores de crescimento e compostos fenólicos são citados na literatura como os aleloquímicos mais comuns (CANSIAN *et al.*, 2013; ĐORĐEVIĆ *et al.*, 2019).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

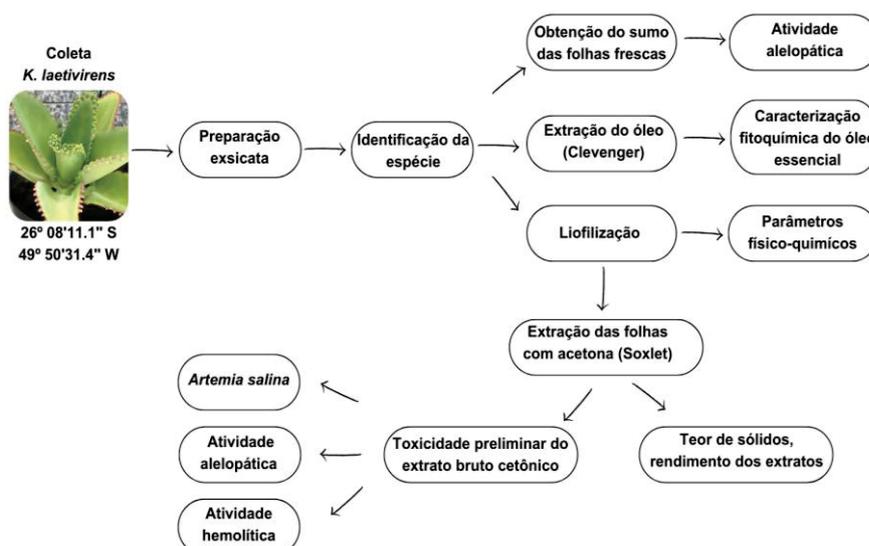
Essa pesquisa foi dividida em três capítulos como mostra o resumo gráfico na figura 3.



FONTE: O autor (2023).

Os testes experimentais foram realizados seguindo o fluxograma descrito na figura 4.

FIGURA 4 – FLUXOGRAMA DA METODOLOGIA DA PESQUISA



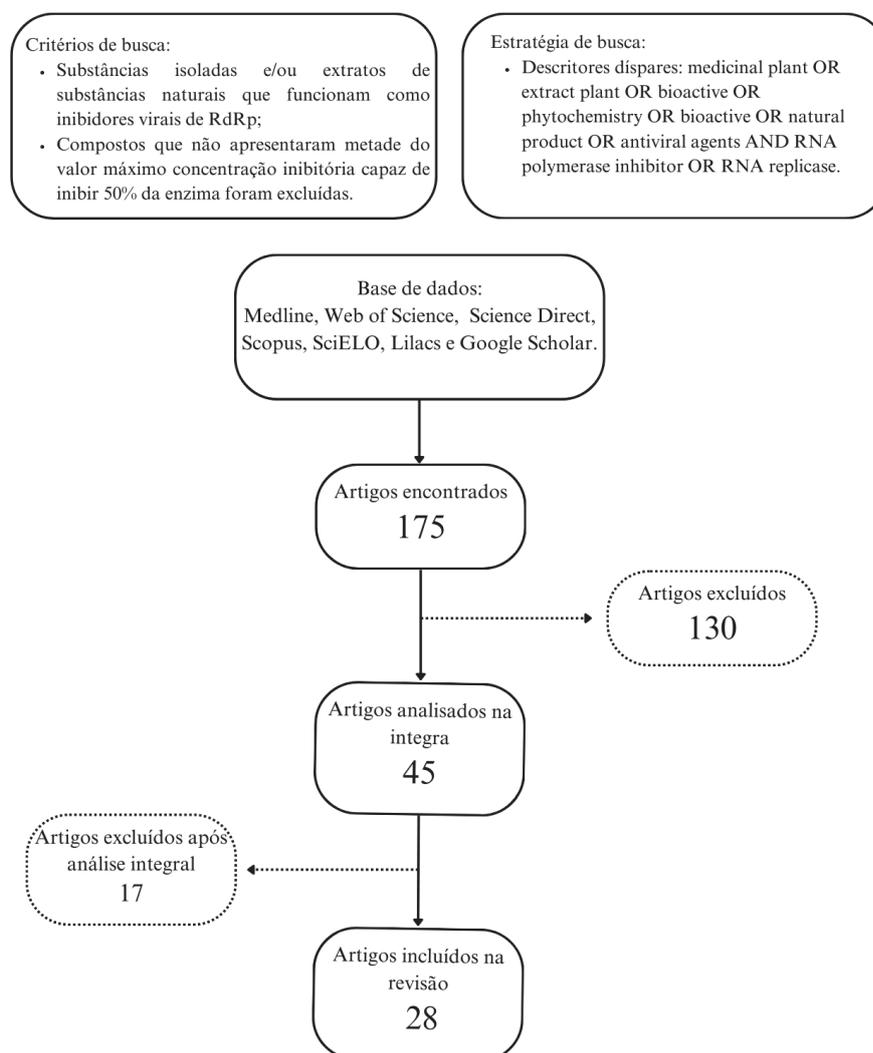
FONTE: O autor (2023).

### 3.1 CAPÍTULO 1 - RNA-DEPENDENT RNA POLYMERASE (RDRP) NATURAL ANTIVIRAL INHIBITORS: A REVIEW

Nesta revisão foram reunidos os extratos brutos, frações e compostos isolados provenientes de fontes naturais que apresentaram resultados promissores como inibidores de RdRp viral ao longo dos últimos 20 anos. Como estratégia de busca foram utilizados os seguintes descritores: medicinal plant OR plant extract OR bioactive OR phytochemical OR bioactive OR natural product OR antiviral agents AND RNA polymerase OR RNA replicase inhibitor. A busca pelos artigos foi realizada nos principais bancos de dados da área da saúde como Medline, Scopus, Web of Science, Embase, Science Direct, Scielo e Lilacs.

Na etapa de triagem os artigos foram selecionados de acordo com a análise do título e resumo. Para a inclusão de artigos da primeira revisão consideramos os seguintes critérios: artigo que apresentaram bioativos selecionados *in vitro*, de acordo com a concentração inibitória média ( $IC_{50}$ ), em testes relativos a inibição de RNA polimerase dependente de RNA e compostos testados em vírus que são capazes de infectar seres humanos. Foram excluídas as seguintes pesquisas: provenientes de óleos essenciais; escritas sem a utilização de caracteres romanos e que não apresentaram a inibição da polimerase viral como mecanismo de ação. A etapa de elegibilidade foi concluída através de uma nova triagem por meio da leitura dos artigos na íntegra, realizada por dois revisores (autores) independentes, em casos de divergência, um terceiro revisor era consultado (FIGURA 5).

FIGURA 5 – PROCESSO DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO DOS ESTUDOS PARA REVISÃO INTEGRATIVA



FONTE: O autor (2023).

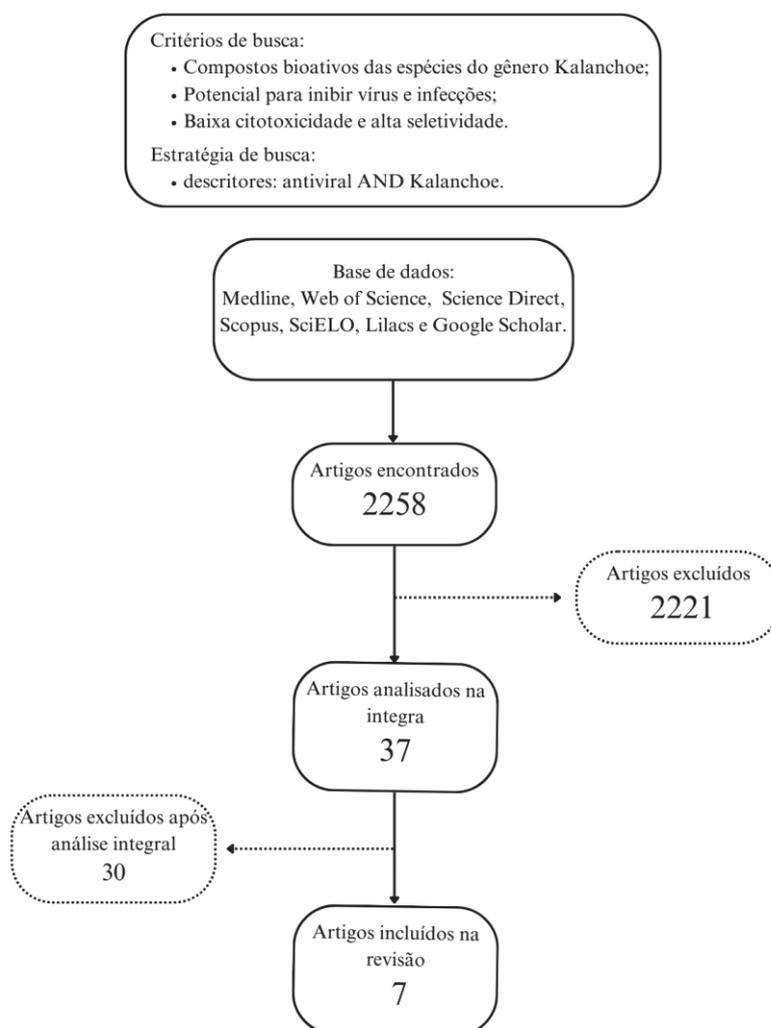
### 3.2 CAPÍTULO 2 - GENUS *KALANCHOE*: AN UPDATED REVIEW ON ANTIVIRAL POTENTIAL

Com objetivo de relacionar extratos e metabolitos com potencial antiviral no gênero *Kalanchoe*, utilizou-se como estratégia de busca os seguintes descritores: antiviral AND *Kalanchoe*. A busca pelos artigos foi realizada nos principais bancos de dados da área da saúde como Medline, Scopus, Web of Science, Science Direct, Scielo e Lilacs, além da pesquisa que foi realizada de forma manual nas referências citadas pelos artigos incluídos e na literatura cinzenta, como registros não indexados (Google Scholar).

Na etapa de triagem os artigos foram inicialmente selecionados de acordo com a análise do título e resumo. Foram excluídos os artigos escritos sem caracteres romanos, que apresentavam ensaios *in vivo* e ou *in silico* e que utilizaram nos ensaios vírus específicos de células vegetais. Não foi estipulado um período de tempo para esta revisão. A etapa de elegibilidade foi concluída através de uma nova triagem realizada por meio da leitura dos artigos na íntegra (FIGURA 6).

Todas as etapas referentes à avaliação dos artigos foram realizadas por dois revisores (autores) independentes, em casos de divergência, um terceiro revisor era consultado.

FIGURA 6 – PROCESSO DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO DOS ESTUDOS PARA REVISÃO INTEGRATIVA



FONTE: O autor (2023).

### 3.3 CAPÍTULO 3 - CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOTÓXICO *IN VITRO* DO EXTRATO BRUTO DE *K. laetivirens* DESC.

#### 3.3.1 Cultivo da espécie *K. laetivirens*

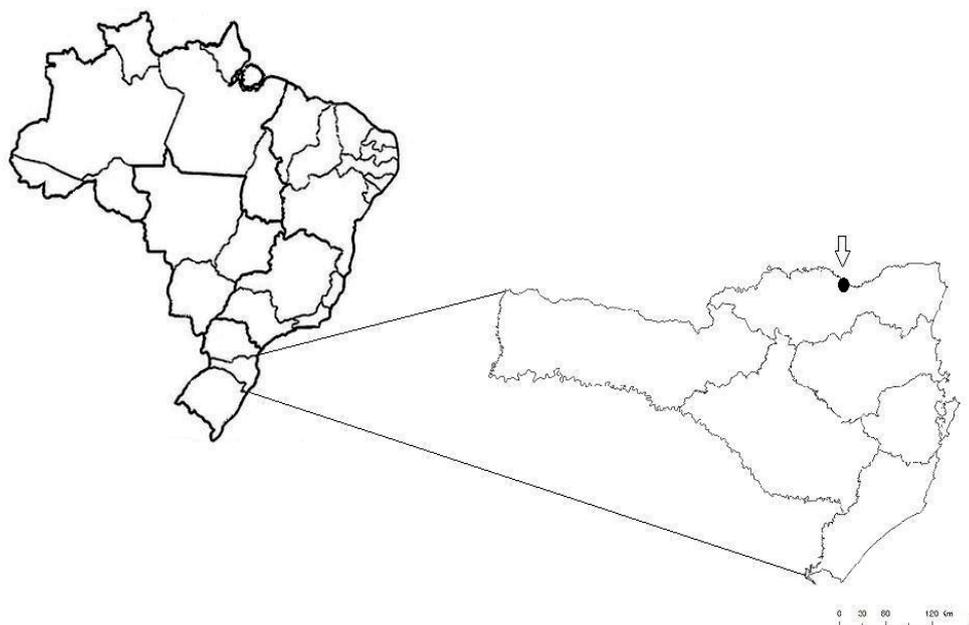
O clima da região do Planalto Norte do estado de Santa Catarina varia conforme as estações do ano, o inverno costuma ser rigoroso e a temperatura pode chegar a 0° C. Esta espécie diferente de outras do mesmo gênero apresenta crescimento mais lento e não se adapta bem em temperaturas baixas. Levando em consideração também o baixo rendimento de material vegetal após o processo de liofilização, optou-se por construir uma casa de vegetação para poder realizar o cultivo da espécie.

A casa de vegetação foi coberta com um filme leitoso próprio para esta finalidade, cercada por uma tela de sombreamento feita com fios de polietileno de alta densidade, conhecida como sombrite (50% de sombreamento).

Primeiramente, realizou-se a análise química do solo da casa de vegetação, uma fina camada de terra foi retirada e descartada, em seguida coletaram-se amostras de solo com profundidade de 20 cm em três pontos diferentes do terreno. As amostras foram homogeneizadas e uma amostra 0,4 kg de solo foram colocada em saco plástico limpo e enviado para a Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI). A muda da espécie *K. laetivirens* utilizada para o cultivo foi obtida no local de coordenadas 26° 08'11.1" S e 49° 50'31.4" W.

#### 3.3.2 Obtenção do material botânico para cultivo de *K. laetivirens*

Partes aéreas (folhas, plântulas e caules) de *K. laetivirens* foram coletadas, nos meses de maio e junho, em Mafra, localizada no norte de Santa Catarina (26° 08'11.1" S e 49° 50'31.4" W) (FIGURA 7). A espécie vegetal não apresentava floração quando foi coletada, as partes vegetais foram separadas, limpas quando em excesso de terra, as folhas foram congeladas a -80°C. O presente estudo possui cadastro na plataforma SISGEN, autorização para atividades de acesso ao patrimônio genético com o código de cadastro A874D32.

FIGURA 7 – LOCAL DE COLETA DO GÊNERO *K. laetivirens* NO BRASIL

FONTE: O autor (2019).

### 3.3.3 Reagentes e solventes utilizados

Todos os reagentes e solventes comerciais utilizados foram de pureza analítica e de procedência Merck, Aldrich Chemical Company e Vetec.

### 3.3.4 Extração e caracterização do óleo essencial de *K. laetivirens*

Para a extração do óleo utilizou-se o aparelho de Clevenger, pesou-se 1.300g de folhas frescas de *K. laetivirens*, após serem trituradas, foram colocadas no extrator com 2L de água deionizada, o sistema manteve-se aquecido a 100 °C aproximadamente por 6 horas.

### 3.3.5 Liofilização

Por ser uma planta com alto teor de água, a liofilização foi o método de secagem escolhido. A temperatura e a pressão extremamente baixa proporcionam a secagem adequada sem degradar o material vegetal (KAI *et al.*, 2019). As folhas foram desidratadas através do liofilizador Bench Top Pro, marca: VirTis SP Scientific® (FIGURA 8).

FIGURA 8 – LIOFILIZADOR



FONTE: O autor (2019).

### 3.3.6 Teor de umidade e cinzas do material vegetal

#### 3.3.6.1 Porcentagem de umidade

Segundo a metodologia descrita pela Farmacopéia Brasileira 6ª edição - 2019 (BRASIL, 2019a), aproximadamente 1g do material liofilizado e moído foi transferida para um cadinho previamente dessecado e a amostra foi seca em estufa a 100° C até peso constante. O peso resultante da perda por dessecação foi utilizado para calcular o teor de umidade presente no material por meio da seguinte equação:

$$U \% = (P_u - P_s) / P_a \times 100$$

Na qual,

U (%) = teor de umidade, em porcentagem;

P<sub>u</sub> = Peso do cadinho com a amostra antes da dessecação;

P<sub>s</sub> = Peso do cadinho com a amostra após a dessecação;

P<sub>a</sub> = Peso da amostra.

O procedimento foi realizado em quintuplicata, ao final, obteve-se a média dos teores de umidade.

### 3.3.6.2 Cinzas totais

A metodologia foi realizada conforme a Farmacopéia Brasileira 6ª edição – 2019 (BRASIL, 2019a). Um cadinho previamente pesado e calcinado com 3g do material vegetal seco e triturado foi levado à mufla e submetido a um aumento gradual de temperatura (até o máximo de 600°C). Após o período de 6h, o cadinho foi retirado da mufla e dessecado. O ensaio foi realizado em quintuplicata, e o resultado foi a média dos valores obtidos.

Em seguida, foi calculada a porcentagem de cinza, por meio da seguinte fórmula:

$$\text{Cinzas totais \%} = (P2 - P1) / P3 \times 100$$

Na qual,

P1 = Peso do cadinho;

P2 = Peso do cadinho com a amostra após a incineração;

P3 = Peso da amostra inicial.

### 3.3.7 Obtenção dos extratos brutos de *K. laetivirens*

Para a extração de compostos químicos das folhas de *K. laetivirens* foi utilizado o aparelho de Soxhlet modificado, (DE CARVALHO *et al.*, 2009), patenteadado sob o número de registro: P0601703-7.

No suporte de vidro, sobre uma placa porosa e uma camada de algodão foi colocado 193g de material vegetal (FIGURA 9). Em seguida foram adicionados 3000 mL de acetona no balão. Com o sistema sob aquecimento, a acetona presente no balão foi evaporada e posteriormente condensada no condensador de bolas, conectado ao Soxhlet, permitindo seu retorno ao aparelho, propiciando uma extração contínua. Todo sistema foi levado ao aquecimento em manta aquecedora e deixado em refluxo, perfazendo 2 ciclos de 8 horas, deste modo foi obtido o extrato cetônico bruto.

FIGURA 9 – EXTRAÇÃO DAS FOLHAS DE *K. laetivirens* EM APARELHO DE SOXHLET MODIFICADO



FONTE: O autor (2019).

Cerca de 30mL de cada extrato bruto obtido foram separados, para a análise do teor de sólidos e o restante foi concentrado em rotavapor até a evaporação do solvente para serem utilizados nos testes.

### 3.3.8 Determinação do teor de sólidos dos extratos brutos de *K. laetivirens*

Para determinar o teor de sólidos totais, foi seguida a metodologia descrita na Farmacopéia Brasileira 6ª edição - 2019 (BRASIL, 2019a), ou seja, foi colocado 1 mL do extrato bruto em placas de petri previamente dessecadas e pesadas. O material foi levado à estufa (105 °C) até o peso constante. O cálculo foi realizado seguindo a fórmula:

$$S \% = (P_u - P_s) / P_a \times 100$$

Na qual,

S (%) = teor de sólidos totais, em porcentagem;

Pu = Peso do cadinho com amostra antes da dessecação;

Ps = Peso do cadinho com a amostra após a dessecação;

Pa = Peso da amostra.

### 3.3.9 Análise do potencial citotóxico de *K. laetivirens*

As técnicas selecionadas para essa análise foram: atividade tóxica sobre o microcrustáceo *Artemia salina* Leach, atividade hemolítica *in vitro* e avaliação da atividade alelopática.

#### 3.3.9.1 Avaliação do potencial tóxico de *K. laetivirens* sobre o microcrustáceo *Artemia salina* Leach

Para essa avaliação foi empregada a metodologia descrita por Meyer *et al.* (1982), com modificações. Inicialmente, foi preparada uma solução salina pH 8,8 a 10,0 com sal marinho Instant Ocean Sea Salt e água destilada (concentração de 35 g/L). Essa solução foi utilizada para eclosão dos cistos do microcrustáceo *Artemia salina* Leach e preparo das amostras. Para eclosão, os cistos foram mantidos em solução salina por 48 h sob agitação e aquecimento com lâmpada de 20W. Após eclosão dos cistos, os náuplios foram atraídos com auxílio de luz e coletados com auxílio de pipeta de Pasteur.

Para o preparo de amostras, foi utilizada uma solução mãe na concentração de 1000 µg/mL em solução salina com 1% de dimetilsulfóxido (DMSO) e diluições nas concentrações de 750, 500, 250, 100, 50 e 10 µg/mL. O mesmo se deu com o controle positivo do experimento (sulfato de quinidina). Para controle negativo, empregou-se solução salina com 1% de DMSO.

Para condução do ensaio 5 mL das diferentes concentrações de amostra ou controles foram adicionados a frascos de vidro juntamente com 10 náuplios de *Artemia salina* Leach. Os frascos foram mantidos abertos em local limpo e a temperatura ambiente pelo período de 24 horas. Decorrido o tempo, foi conduzida a contagem de animais vivos e mortos. O ensaio foi realizado em quintuplicata. A

atividade tóxica foi determinada por meio da concentração letal 50 (CL<sub>50</sub>) com auxílio da análise estatística Probit no software SPSS versão 23.0. Valores de CL<sub>50</sub> inferiores a 1000 µg/mL indicaram toxicidade da amostra (MEYER *et al.*, 1982).

#### 3.3.9.2 Avaliação da atividade hemolítica do extrato cetônico de *K. laetivirens* sobre sementes de *Lactuca sativa*.

Para avaliar o potencial hemolítico do extrato em diferentes concentrações seguiu-se a metodologia descrita por (BANERJEE *et al.*, 2008), com adaptações. Ao final a avaliação da atividade hemolítica dos extratos brutos foi conduzida por método espectrofotométrico. Inicialmente, o sangue de carneiro (Newprov®) foi levemente homogeneizado e centrifugou-se 5mL do sangue durante 5 minutos a 3000 rpm, por 3 vezes. O sobrenadante foi desprezado, e a papa eritrocitária resultante foi diluída com PBS para obtenção de uma solução a 2%. Para a realização da prova de hemólise foram utilizados os extratos nas concentrações de 1000, 500, 200 e 100µg/mL. A diluição das amostras foi feita com 10% de metanol e PBS. Como controle negativo foi utilizado 200µL de PBS em 200µL de solução de eritrócito a 2%. Como controle positivo foi utilizado 200µL de água purificada em 200µL de solução de eritrócito a 2%. No controle negativo adicionou-se 20µL de metanol mais 180µL de PBS em 200µL de solução de eritrócito a 2%.

Para a análise foram preparadas alíquotas em eppendorfs de 200µL para as amostras em diferentes concentrações e controles, e 200µL da suspensão de eritrócitos a 2%. As soluções em eppendorfs foram incubadas durante 3 horas em estufa a temperatura controlada de 37°C. Em seguida foram resfriadas em banho de gelo, a fim de cessar a reação. Após a incubação, as soluções foram centrifugadas a 3000 rpm durante 5 minutos.

Para avaliação da hemólise foi utilizado espectrofotometria, na qual foi mensurada a absorbância do sobrenadante em leitor de microplacas Thermo Plate a 540nm (CHAUDHURI *et al.*, 2007; BANERJEE *et al.*, 2008). Para a quantificação da hemólise, o valor foi calculado em porcentagem, considerando-se o valor de 100% a absorbância do tubo de hemólise total.

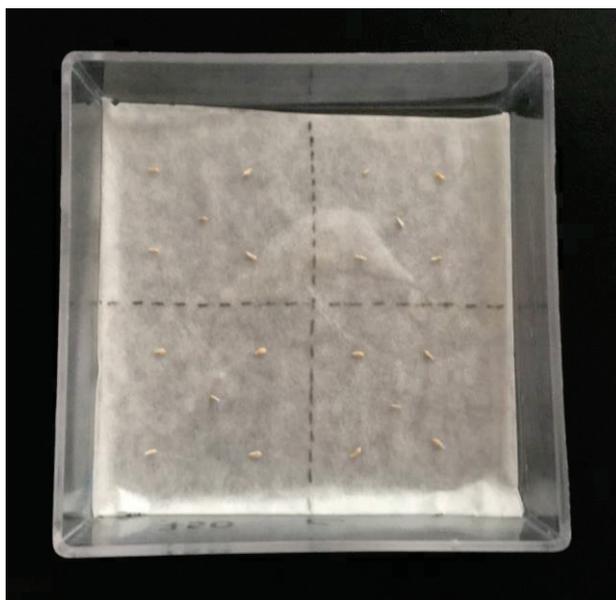
#### 3.3.9.3 Avaliação do potencial alelopático do extrato cetônico de *K. laetivirens* sobre sementes de *Lactuca sativa*.

Para a avaliação da atividade alelopática de metabolitos presentes nas folhas de *K. laetivirens*, observou-se a germinação de sementes e o desenvolvimento de plântulas. Como modelo experimental utilizou-se sementes de *Lactuca sativa* L com alto índice de germinação e que apresentavam as recomendações necessárias para o desenvolvimento adequado dos ensaios (fabricante Agristar do Brasil LTDA lote 042016, 99% de pureza e 95% de germinação). A espécie *L. sativa*, utilizada nos bioensaios apresenta uma germinação rápida, em aproximadamente 24h e crescimento linear, apresenta resistência a variações de pH e mudanças osmóticas (CANSIAN *et al.*, 2013).

O teste foi realizado em caixas transparentes, tipo gerbox, quadradas com 11 cm e 3,5 cm de altura, contendo tampas. As caixas foram previamente secas em estufa a 50 °C e higienizadas com hipoclorito de sódio, forradas com 2 folhas de papel filtro Whatman® nº 6. Em seguida, foram preparadas soluções em concentrações de 100, 250, 500, 750 e 1000 µg/mL do extrato e como controle empregou-se água e solvente nas mesmas condições de preparo. Foram pipetados 6 mL de amostra em cada caixa (2 vezes o peso do papel filtro), após a completa evaporação dos solventes, cada caixa foi dividida em quatro quadrantes e cada quadrante recebeu cinco sementes, totalizando vinte sementes (FIGURA 10). Preparou-se para cada tratamento, duas caixas, uma destinada à avaliação da germinação e outra para verificação do crescimento. As caixas foram colocadas em BOD com temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12h.

O início da germinação é apontado com a embebição da semente e o final com a protrusão da radícula (MARCOS FILHO, 2005). Sendo assim, no ensaio do teste de germinação, foram realizadas leituras a cada 12 horas, as sementes germinadas (protrusão da radícula de 3 mm) foram retiradas a cada leitura (DE *et al.*, 2002; ADEGAS; VOLL, 2003). Após três dias, essas caixas receberam a reposição das amostras correspondente a 50% do volume inicial.

Para a verificação do crescimento, após o período de sete dias avaliou-se o comprimentos da radícula (distância em mm do colo até o ápice meristemático), do hipocótilo e folíolo (distância em mm do colo até o ápice) (MACÍAS *et al.*, 2000; CHON *et al.*, 2005; DIAS *et al.*, 2005; DE OLIVEIRA *et al.*, 2012). As medidas foram obtidas com o auxílio de um paquímetro digital.

FIGURA 10 – CAIXA GERBOX COM SEMENTES DE *Lactuca sativa* L.

FONTE: O autor (2019).

O índice de velocidade de germinação foi calculado usando-se a fórmula:

$$IVG = G1/N1 + G2/N2 + Gn/Nn$$

Na qual:

N é o número de dias;

G é o número de plântulas computadas por dia a cada contagem (MAGUIRE, 1962).

A análise estatística foi feita utilizando o programa SISVAR e a comparação das médias por meio de teste Scott-Knott a 5% de probabilidade (CENTENARO *et al.*, 2009).

#### 3.3.9.4 Avaliação do potencial alelopático do sumo de *K. laetivirens* em estacas de *K. laetivirens*.

Avaliou-se de forma qualitativa o potencial alelopático do sumo de *K. laetivirens* no enraizamento de estacas da mesma espécie, a metodologia foi delineada segundo Lisboa *et al.* (2016), com modificações. Foram coletadas em maio de 2020, estacas herbáceas de *K. laetivirens* com três folhas, medindo

aproximadamente 10 cm de comprimento, do ápice da raiz à parte apical das folhas (FIGURA 11). Tanto as estacas como as folhas utilizadas para a preparação do sumo, foram coletadas na cidade de Mafra, no estado de Santa Catarina.

FIGURA 11 – ESTACAS HERBÁCEAS DE *K. laetivirens*



FONTE: O autor (2023).

Para a obtenção do sumo a 10% (p/v), utilizou-se 100g de folhas de *K. laetivirens*, em um liquidificador triturou-se as folhas com 1000mL de água, após filtrou-se com auxílio de papel filtro. Foram acomodadas 3 estacas em cada recipiente cilíndrico com altura de 8cm, de vidro, sem tampa e com abertura de 5cm de diâmetro. As estacas foram tratadas com 5mL de sumo (totalizando 9 estacas do grupo teste) e 5mL de água purificada (9 estacas do grupo controle).

As estacas permaneceram imersas no sumo de folhas de *K. laetivirens* e em água purificada por 24h, após este período os tratamentos (sumo e água) foram desprezados, os recipientes foram lavados. As estacas foram novamente acomodadas nos recipientes e de acordo com cada tratamento, cada estaca recebeu novamente 5 mL de sumo (teste) e de água purificada (controle). Desta vez todas as estacas ficaram imersas nos tratamentos por 20 dias (FIGURA 12). Após este período, analisaram-se visualmente, sem análise estatística, os aspectos relacionados com a sobrevivência da estaca e o comprimento de raízes.

FIGURA 12 – ESTACAS HERBÁCEAS DE *K. laetivirens* IMERSAS EM SUMO



FONTE: O autor (2023).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 CAPÍTULO 1 - RNA-DEPENDENT RNA POLYMERASE (RDRP) NATURAL ANTIVIRAL INHIBITORS: A REVIEW

Essa revisão integrativa foi publicada na revista internacional *Medicinal Chemistry Research*, cujo fator de impacto é 2.6 (A2), a revista publica pesquisas que enfatizam as relações estrutura-atividade de compostos biologicamente ativos. O artigo intitulado como “**RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) natural antiviral inhibitors: a review**”, foi enviado para a revista em 27 de maio de 2022, sendo aceito em 26 de agosto de 2022 e publicado em 29 de setembro de 2022. O artigo pode ser acessado no link: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00044-022-02963-2>.

A enzima RdRp é parte do processo de replicação do RNA, a partir de um molde de RNA. Inibidores dessa enzima são específicos para vírus, pois esse processo não acontece em células eucarióticas. Além disso, a RdRp é específica em vírus que são mais propensos a sofrer mutação, que têm o material genético codificado na forma de RNA. Durante a pandemia de covid-19, cientistas do mundo inteiro reuniram esforços para encontrar um composto ou fármaco candidato a inibir a replicação, consequente multiplicação e sucessivas mutações do SARS-CoV-2. Em meio a esse cenário, essa pesquisa teve como objetivo principal simplificar o processo de busca por fitocomplexos com potencial antiviral. E também especificar espécies vegetais, estruturas químicas capazes de se ligar em sítios ativos da enzima RdRp. Hidroxiflavonas, podocarpusflavona, amentoflavona, ácido úsnico foram alguns dos compostos relacionados, a grande maioria deles pertencentes aos grupos dos triterpenos e flavonoides.

### 4.2 CAPÍTULO 2 - GENUS *KALANCHOE*: AN UPDATED REVIEW ON ANTIVIRAL POTENTIAL.

Nessa revisão integrativa o potencial antiviral do gênero *Kalanchoe* foi analisado, sem se restringir a um mecanismo de ação específico. Foi inicialmente aprovada pelo Conselho Editorial da revista *Current Topics in Medicinal Chemistry*, cujo fator de impacto é 3.4 (A2). A revista publica revisões nas áreas da química

medicinal, incluindo desenvolvimentos atuais em design racional de medicamentos, química combinatória, medições de diversidade de compostos, absorção de medicamentos, distribuição de medicamentos, metabolismo, alvos de medicamentos novos e emergentes, produtos naturais, farmacogenômica e relações estrutura-atividade. O artigo foi intitulado como “**Genus *Kalanchoe*: An updated review on antiviral potential**”, foi enviado para a revista em 23 de outubro de 2023, sendo aceito inicialmente em 01 de novembro de 2023. No momento, está em análise pelo serviço de suporte da revista.

Após a pandemia causada pelo vírus Sars-CoV-2, muitas pessoas ainda sofrem com sintomas resultantes da covid prolongada e mais uma vez observa-se a necessidade e a importância de estudos científicos que permitam a investigação de novas moléculas com potencial antiviral. O artigo apresentou um levantamento de compostos bioativos presentes nas espécies do gênero *Kalanchoe*, utilizando a seleção de artigos em várias bases de dados. Foi abordado o potencial para inibir vírus e infecções das espécies *Kalanchoe pinnata*, *Kalanchoe draigremontiana* e *Kalanchoe gracilis*. Essa revisão possibilitou relacionar compostos candidatos a futuras pesquisas. Conforme dados revisados, gênero *Kalanchoe* pode ser uma fonte promissora de bioativos com baixa citotoxicidade e alta seletividade.

#### 4.3 CAPÍTULO 3 - CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOTÓXICO *IN VITRO* DO EXTRATO BRUTO DE *K. laetivirens* DESC.

A seleção da espécie para o desenvolvimento de testes citotóxicos foi pela escassez de dados, na plataforma de busca da National Library of Medicine (NLM), PubMed, apenas um artigo foi encontrado utilizando o sinônimo da espécie, *Bryophyllum laetivirens*.

##### 4.3.1 Cultivo da espécie *K. laetivirens*

Determinar a qualidade do solo e quantidade de nutriente é fundamental para o cultivo de plantas medicinais, além disso é importante para que esses parâmetros possam ser considerados e relacionados em estudos fitoquímicos futuros (SIMOES). A análise química do solo pela EPAGRI mostrou que o solo

estava próprio para cultivo, portanto não foi adicionado nenhuma substância. Para análise dos componentes do solo a EPAGRI utilizou as seguintes metodologias: Argila- densimetria; P- Mehlich-1 / colorimetria; K- Mehlich-1 / fotômetro de chamas; MO- espectroscopia; Al, Ca e Mg- KCl / espectrofotometria de absorção atômica (FIGURA 13).

FIGURA 13 – ANÁLISE QUÍMICA DO SOLO

Nº Lab	Ref.	Área (ha)	% Argila m/v	pH-Água 1:1	Índice SMP	P mg/dm <sup>3</sup>	K mg/dm <sup>3</sup>	% MO m/v	Al cmolc/d	Ca cmolc/d	Mg cmolc/d
4797	1 -		15	6,8	7,1	76	64	3,1	0	5,7	0,8

Nº Lab	Ref.	H + Al cmolc/d	CTC pH7.0	Al (valor m)	% Saturação na CTC a pH 7.0			Relações			
					Bases	K	Ca	Mg	Ca/Mg	Ca/K	Mg/K
4797	1	1,22	7,85	0	84,41	2,09	72,61	9,72	7,47	34,82	4,66

Gráfico de barras horizontais comparando os valores de pH, SMP, P, K, Ca e Mg com faixas de referência (M. Baixo, Baixo, Médio, Alto, M. Alto). O eixo horizontal representa as faixas de referência, e o eixo vertical representa os parâmetros analisados. As barras indicam a posição dos valores obtidos em relação a essas faixas.

FONTE: O autor (2019).

A casa de vegetação foi cercada por uma tela de sombreamento, que permitiu a ventilação, evitou a umidade e impediu a entrada de poeira e animais. As telas de sombreamento apresentam um custo menor e contribuem para o resfriamento da casa de vegetação em dias mais quentes (SCARANARI *et al.*, 2008). Tanto as plântulas como as plantas adultas foram cultivadas em vasos (FIGURA 14).

FIGURA 14 – PLÂNTULAS E PLANTA ADULTA DE *K. laetivirens* CULTIVADAS EM VASOS



FONTE: O autor (2019).

A estufa foi coberta com plástico transparente, assim foi possível ter a passagem de luz solar e o calor em seu interior foi mantido (FIGURA 15). Tanto o plástico como a tela de sombreamento protegeram as plântulas contra impactos climáticos naturais, como vento, chuva, granizo, geada e assim foi possível obter uma quantidade maior da planta.

FIGURA 15 – CASA DE VEGETAÇÃO



FONTE: O autor (2019).

Com o passar do tempo percebeu-se que a espécie apresentava um melhor desenvolvimento fora da casa de vegetação, sendo assim, esta foi destinada apenas ao cultivo das plântulas. As plantas adultas eram protegidas apenas nos dias de inverno rigorosos. Por meio da observação direta da planta durante sete meses (março a setembro de 2019), foi possível notar que as folhas apresentam plântulas durante o período de verão e outono, no início do inverno as folhas começam a perder as plântulas (FIGURA 16).

FIGURA 16 – FOLHAS DE *K. laetivirens* COM PERDAS DE PLÂNTULAS

FONTE: O autor (2019).

#### 4.3.2 Material vegetal

Todas as plantas observadas floresceram no fim do mês de julho (FIGURA 17). Desta forma, foi possível realizar o processo de herborização. A planta fresca com inflorescência foi analisada pelo biólogo botânico Mário Fritsch, a exsicata produzida foi depositada sob o número 331500 (FIGURA 18), no Museu Botânico Municipal (MBM) de Curitiba–PR, localizado no Jardim Botânico de Curitiba. A identificação foi confirmada também pelo biólogo botânico José Tadeu Motta do MBM. O nome da planta *K. laetivirens* foi verificada no site The Plant List, sendo sinônimo de *Bryophyllum laetivirens*.

FIGURA 17 – FLORES DE *K. laetivirens*

FONTE: O autor (2019).

FIGURA 18 – EXSICATA DE *K. laetivirens* DEPOSITADA NO MUSEU BOTÂNICO MUNICIPAL

FONTE: O autor (2019).

#### 4.3.3 Extração e caracterização do óleo essencial de *K. laetivirens*

A amostra obtida por hidrodestilação e identificada por cromatografia acoplada à espectrometria de massas (GC/MS) mostrou 8 compostos químicos presentes no óleo essencial de *K. laetivirens*. O volume obtido da extração, aproximadamente 1 $\mu$ L, de óleo essencial de folhas e caules foi insuficiente para caracterizar todos os compostos químicos (TABELA 1).

TABELA 1 – RESULTADO DA CROMATOGRAFIA GASOSA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *K. laetivirens*

Compostos	TR	Irc	Irt	(%)
<b>Heptane, 2,4-dimethyl-</b>	<b>3.595</b>	<b>847</b>	<b>820</b>	<b>3,40</b>
<b>(2E)-Hexenal</b>	<b>4.225</b>	<b>865</b>	<b>846</b>	<b>18,41</b>
<b>(2Z)-Hexenol</b>	<b>4.470</b>	<b>873</b>	<b>859</b>	<b>10,39</b>
n-Hexanol	4.555	875	863	1,31
Benzene, 1,3-dimethyl-	4.650	878	872	0,80
1-Octen-3-ol	7.995	976	979	0,61
<b>Cadina-1(10),4-diene</b>	<b>31.115</b>	<b>1514</b>	<b>1524</b>	<b>2,66</b>
Ethyl p-ethoxybenzoate	31.290	1518	1522	1,46
NI	6.710	938		1,50
NI	7.030	948		2,35
NI	11.005	1052		4,13
NI	11.245	1058		1,71
NI	11.910	1074		0,64
NI	12.630	1091		0,66
NI	12.980	1099		2,82
NI	13.230	1105		1,19
NI	20.900	1274		3,54
NI	21.280	1283		0,79
NI	21.535	1288		0,89
NI	21.860	1295		0,94
NI	22.025	1299		0,76
NI	22.975	1321		3,12
NI	23.415	1331		10,08
NI	23.800	1340		1,11
NI	29.175	1466		10,14
NI	30.030	1487		3,15
NI	31.855	1533		2,18
NI	39.730	1742		1,97
NI	70.195	2807		3,69

NOTA: TR= tempo de retenção (minutos), IRt = índice de retenção (Adams, 2007), IRC = índice de retenção calculado, %= porcentagem do componente, NI = Não identificados. Porcentagem de compostos identificados 39,04, porcentagem de compostos não identificados 57,36.

FONTE: O autor (2019).

A tabela 2 relaciona os componentes identificados que estavam em maior quantidade no óleo essencial.

TABELA 2 – COMPONENTES MAJORITÁRIOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *K. laetivirens*

Grupos Químicos	Compostos	TR	IRc	IRt	(%)
Alcano	2,4-dimetil-heptano	3.595	847	820	3,40
Álcool de seis carbonos	(2E)-Hexenol	4.225	865	846	18,41
Álcool de seis carbonos	(2Z)-Hexenol	4.470	873	859	10,39
Sesquiterpeno	Cadina-1 (10), 4-dieno	31.115	1514	1524	2,66

NOTA: TR= tempo de retenção (minutos), IRt = índice de retenção (Adams, 2007), IRc = índice de retenção calculado, %= porcentagem do componente, NI = Não identificados

FONTE: O autor (2019).

Antes de realizar a extração do óleo essencial, folhas e caules frescos de *K. laetivirens* foram triturados, sendo perceptível a presença de componentes voláteis de folhas verdes, característicos em couve ou grama recém-cortada. Esse aroma é devido à presença principalmente de aldeídos, alcoóis e ésteres presente nos compostos orgânicos voláteis (COV) liberados pela planta (HASHEM *et al.*, 2022). O composto (2E)-hexenal (FIGURA 19) em que a ligação dupla olefínica tem configuração E, ocorre naturalmente em uma ampla variedade de frutas, vegetais e especiarias (PUBCHEM, 2023). É resultado da oxidação enzimática do ácido linoléico, catalisada por lipoxigenases (HASHEM *et al.*, 2022). Este composto é comumente liberado após danos celulares, por exemplo, quando a planta é cortada e desempenha diversas funções no vegetal. Entre elas, participa do sistema de defesa da planta, pode repelir ou atrair insetos, age também na comunicação com outras plantas (SPYROPOULOU *et al.*, 2017). Tem um papel como agente aromatizante e agente antibacteriano (HASHEM *et al.*, 2022; e PUBCHEM, 2023).

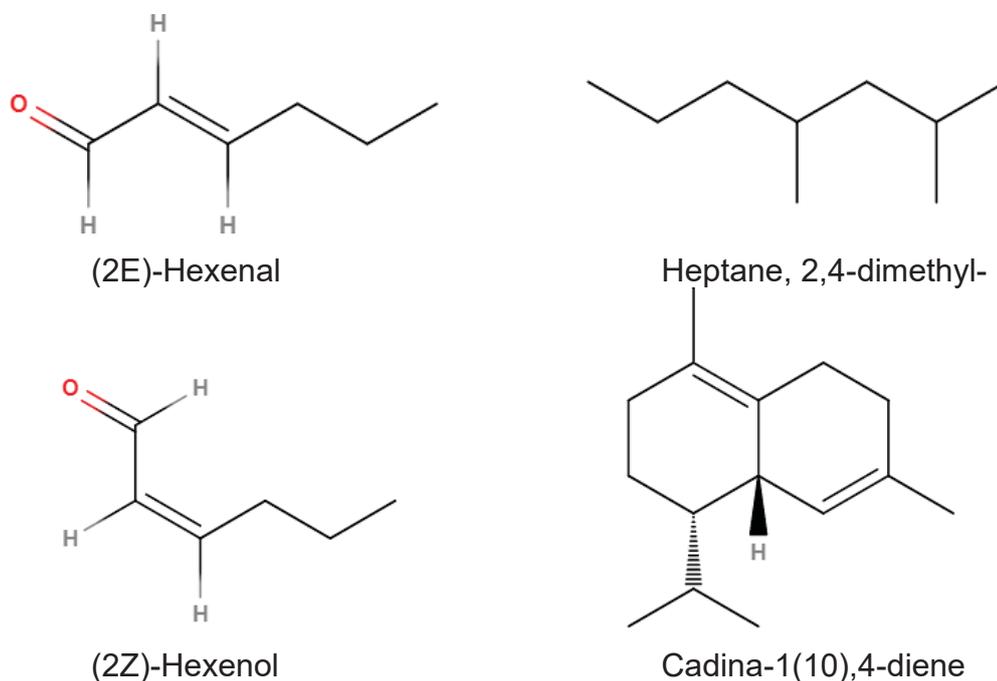
Outro composto químico identificado foi o (2Z)-Hexenal, é produzido em plantas com flores, coníferas e outras gimnospermas (EBI, 016). O (2Z)-Hexenol, assim como o (2E)-Hexenal é um COV naturalmente encontrado em folhas verdes, é capaz de provocar respostas em receptores olfativos de *Sitona lepidus* (gorgulho da raiz do trevo) (PARK *et al.*, 2013). O gorgulho da raiz do trevo, *Sitona lepidus*, é uma espécie de inseto que se alimenta frequentemente de nódulos radiculares fixadores de N<sub>2</sub> de trevo branco (*Trifolium repens*) (JOHNSON *et al.*, 2005). O gorgulho-chato

(*Osphila tenuipes*), presente em Madagascar, é um herbívoro que se alimenta de folhas e caules de espécies *Kalanchoe* (HERRERA *et al.*, 2012). Assim, como o gorgulho da raiz do trevo é atraído pelo (2Z)-Hexenol, esse composto, entre outros, pode ser o responsável pela atração do gorgulho-chato em espécies de *Kalanchoe*.

A comunicação que acontece entre plantas e insetos desempenha um papel essencial na ecologia química, as plantas respondem à herbivoria, através da liberação de COVs, que por sua vez atraem inimigos carnívoros dos herbívoros (DIRECT, 2010; AARTSMA *et al.*, 2017). Ademais, diante de alguma ameaça os COVs também podem “avisar” as plantas vizinhas de um possível ataque, ou ainda afetar negativamente as plantas ao redor, protegendo a planta emissora de competição. O conjunto de COVs liberados varia tanto em composição quanto em concentração a depender do estágio da planta, da espécie e de fatores ambientais, por isso essa matriz de voláteis foi descrita como mosaico volátil (AARTSMA *et al.*, 2017) e envolve processos de alelopatia e alelobiose vegetal (HAN *et al.*, 2023).

O composto 2,4-dimetil-heptano identificado no óleo essencial de *K. laetivirens* (FIGURA 19) é um dos COVs gerados por *Eucalyptus* spp., funciona como fitotoxina. Zhiqun *et al.* (2017) investigaram a toxicidade dos COVs em *Eisenia fétida*, os resultados revelaram que *E. fétida* exibiu comportamento significativo de evasão em relação às concentrações mais altas de undecano, decano, 2,4-dimetil heptano e 2,2,4,6,6-pentametil heptano. Concluindo que COVs presentes nas rizosferas de *Eucalyptus grandis* podem exercer um impacto tóxico e de alelopatia resultando em um mecanismo subjacente de impactos ambientais prejudiciais nas plantações comerciais.

Foi identificado também o composto Cadina-1 (10), 4-dieno, membro da família cadineno de sesquiterpenos (PUBCHEM, 2023). Também chamado de  $\delta$ -amorfeno, foi descrito na família Myrtaceae, na espécie *Myrcia multiflora* (Lam) DC, está relacionado com pesquisas com óleos essenciais por apresentar potencial antimicrobiano, citotóxico e antioxidante (FERREIRA *et al.*, 2021). O  $\delta$ -amorfeno foi encontrado na composição química do óleo essencial obtido das folhas de *Piper ovatum* Vahl (Piperaceae), conhecida popularmente como anestésico, seu óleo apresentou propriedades antifúngicas e antimicrobianas (SILVA *et al.*, 2009). Nas espécies *Mentha spicata* (PINO *et al.*, 1998), *Podocarpus gracilior*, (MOHAMED *et al.*, 2023), *Artemisia annua*, *Salvia tomentosa* (PUBCHEM, 2023), entre outras, o  $\delta$ -amorfeno também foi identificado.

FIGURA 19 - COMPONENTES MAJORITÁRIOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *K. laetivirens*

FONTE: A autora (2019).

#### 4.3.4 Liofilização

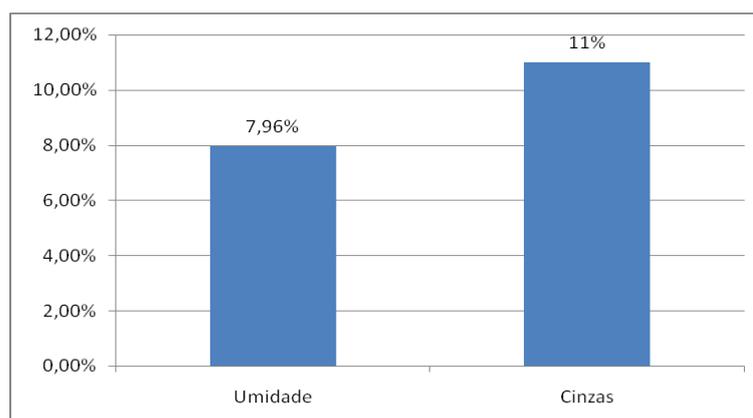
Após separação das partes vegetais, folhas e caules foram desidratados por meio do processo de liofilização. A liofilização é uma tecnologia de secagem que ocorre quando o material vegetal é congelado e constitui a remoção da água por sublimação (ESTUPIÑAN-AMAYA *et al.*, 2020). Esse processo permite que os metabólitos sensíveis ao calor não sejam degradados e devido à grande quantidade de água em partes áreas de *K. laetivirens*, este foi o processo mais adequado para evitar também a contaminação por microrganismos (FIGURA 20). A secagem foi feita em várias etapas, de um total de 2.022 kg de folhas frescas obteve-se 193g de material vegetal liofilizado. Ao termino da liofilização realizou-se a análise físico químicas do material vegetal.

FIGURA 20 – FOLHAS LIOFILIZADAS DE *K. laetivirens*

FONTE: O autor (2019).

#### 4.3.5 Teor de umidade e cinzas

As médias dos teores de umidade e de cinzas totais obtidas para as folhas liofilizadas podem ser observadas no gráfico 1, esses parâmetros atestam o controle de qualidade do material vegetal.

GRÁFICO 1 – TEOR DE UMIDADE E CINZAS (%) DO EXTRATO DE *K. laetivirens*

FONTE: O autor (2023).

A amostra liofilizada de folhas de *K. laetivirens* apresentou 7,96% e 11,22% de teor de umidade e cinzas totais, respectivamente. Embora não existam parâmetros estabelecidos descritos para esta espécie na Farmacopeia Brasileira, os teores determinados pelos ensaios se encontram dentro do limite permitido para a maioria das monografias de drogas vegetais (limite máximo de 8 a 14% para

umidade e 20% para cinzas totais) (BRASIL, 2019). Estudos mostraram valores de 6,6% e 19,75% de teor de cinzas para a *K. pinnata* (SILVA, 2015; IMESQUITA, 2023).

Analisar o teor de umidade em uma amostra vegetal seca é essencial, faz parte da padronização e do controle de qualidade. Indica principalmente se o processo de secagem foi feito de forma correta, uma amostra vegetal devidamente seca inibe a atividade enzimática e a proliferação de microrganismos que podem degradar os compostos bioativos (AMIR *et al.*, 2022).

Por meio da quantificação de cinzas totais é possível avaliar a pureza de uma amostra, assim como estabelecer a quantidade de substâncias residuais não voláteis no processo de incineração. Origina-se, basicamente, dos constituintes minerais e organosméticos (carbonatos, fosfatos, cloretos, óxidos) que fazem parte da composição da planta (BRASIL, 1988; ROMEU *et al.*, 2022).

#### 4.3.6 Obtenção e rendimento do extrato bruto de *K. laetivirens*

O rendimento obtido pelo processo de extração foi de 12,9 mg/mL e a porcentagem em peso do teor de sólidos em relação ao material vegetal foi de 10,33%.

O método de extração por Soxhlet modificado, como descrito por Carvalho *et al.* (2001), utiliza menos solvente, pois permite sua recuperação, aumentando a eficiência da extração. A acetona, solvente de polaridade intermediária (ABUBAKAR; HAQUE, 2020), foi reutilizado até o esgotamento do material vegetal. Em seguida, o extrato obtido das folhas de *K. laetivirens* foi submetido à concentração em evaporador rotatório, em seguida armazenado em frasco âmbar.

#### 4.3.7 Análise do potencial citotóxico de *K. laetivirens*

##### 4.3.7.1 Avaliação do potencial tóxico frente ao microcrustáceo *Artemia salina* L

A *A. salina* é um modelo amplamente utilizado na avaliação da citotoxicidade aguda, como vantagens do ensaio citam-se o fácil manuseio dos cistos secos, simplicidade, baixo custo, o curto ciclo de vida dos crustáceos e o método padronizado de cultivo (ALBENDÍN *et al.*, 2021). Por serem filtradores, os

microcrustáceos são sensíveis a substâncias tóxicas, é um crustáceo de água salgada, inicia sua vida em cistos (KHABIB *et al.*, 2022). Sendo assim, primeiro foi estabelecido condições para que os cistos entrassem em estágio larval (náuplios), a partir desse estágio foi possível testar o extrato (sete diferentes concentrações) das folhas de *K. laetivirens*. Como controle positivo foi utilizado o sulfato de quinidina, na tabela 3 foi apresentado o resultado das porcentagens de letalidade dos microcrústaceos frente as soluções testadas.

TABELA 3 – VALORES DE CL<sub>50</sub> (µg/mL) AVALIADOS FRENTE À *Artemia salina*

Concentração (µg/mL)	Mortalidade (%) +- SD	Lc <sub>50</sub> (µg/mL) LCL - UCL
10	0 ± 0,000	650,523 (647,369 - 655,809)
50	0 ± 0,000	
100	2 ± 0,447	
250	0 ± 0,000	
500	18 ± 2,049	
750	48 ± 4,816	
1000	100 ± 10,000	

NOTA: Nenhuma mortalidade foi observada no controle.

SD = desvio padrão

LC<sub>50</sub> = Concentração letal que mata 50% dos organismos expostos

UCL = 95% limite de confiança superior

LCL = 95% limite de confiança inferior

\*p < 0,05

FONTE: O autor (2023).

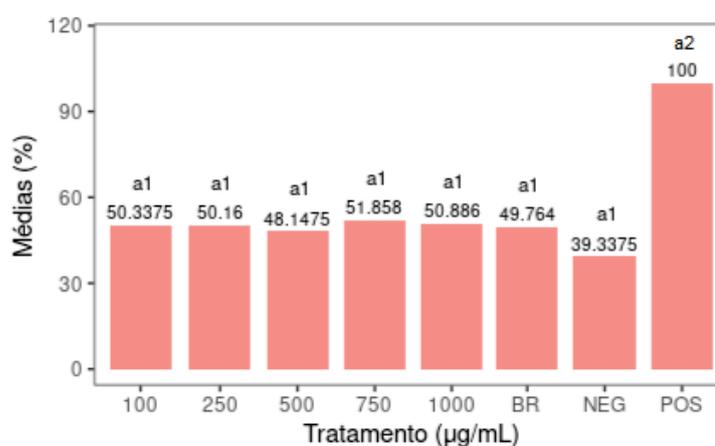
A interpretação para a toxicidade aguda de artemia para extratos vegetais é da seguinte forma: CL<sub>50</sub> < 100 µg/mL representa forte citotoxicidade, CL<sub>50</sub> variando de 100 µg/mL a 500 µg/mL toxicidade moderada, valores de CL<sub>50</sub> entre 500 µg/mL a 1000 µg/mL toxicidade fraca e CL<sub>50</sub> > 1000 µg/mL não é considerada tóxica (MEYER *et al.*, 1982). A toxicidade do extrato frente à *Artemia salina* nas condições testadas foi considerada fraca, pois apresentou CL<sub>50</sub> média de 650 µg/mL.

#### 4.3.7.2 Avaliação da atividade hemolítica do extrato cetônico de *K. laetivirens*

Este modelo de ensaio *in vitro* teve como objetivo avaliar o potencial hemolítico presente no extrato cetônico de folhas de *K. laetivirens*. A porcentagem de hemólise obtida para as diferentes concentrações do extrato não difere estatisticamente da hemólise obtida pelo controle negativo e da amostra que continha apenas os solventes utilizados (branco). Notou-se que na concentração de 500 µg/mL a porcentagem de hemólise foi menor que as obtidas nas concentrações

menores (100 e 250  $\mu\text{g/mL}$ ). Embora a diferença não seja significativa, é possível que na concentração de 500  $\mu\text{g/mL}$  o extrato seja capaz de promover a proteção da membrana dos eritrócitos, sugerindo o sinergismo entre compostos antioxidantes ou efeitos diferentes em concentrações diferentes de um mesmo composto (GRÁFICO 2). As espécies de *Kalanchoe* apresentam um grande potencial antioxidante, elas são descritas como fontes naturais de conteúdo fenólico e flavonoides (MILAD *et al.*, 2014; FERNANDES *et al.*, 2016; MAYORGA *et al.*, 2019; ANDRADE *et al.*, 2023).

GRÁFICO 2 – AVALIAÇÃO HEMOLITICA DO EXTRATO CETÔNICO DE FOLHAS DE *K. laetivirens*.



Valores seguidos de letras semelhantes não diferem estatisticamente entre si.  
 POS: Controle positivo; NEG: Controle negativo; BRAN: Controle branco.  
 FONTE: O autor (2020).

#### 4.3.7.3 Avaliação do potencial alelopático do extrato cetônico de *K. laetivirens* sobre sementes de *Lactuca sativa*.

Nesse ensaio foi possível verificar a presença do potencial alelopático inibitório de bioativos presentes nas folhas de *K. laetivirens*, utilizando sementes de *Lactuca sativa*, um modelo de planta dicotiledônea. Percebeu-se uma diferença significativa na germinação das sementes entre o grupo controle e o grupo teste, além disso, nas sementes do grupo teste que apresentaram germinação (submetidas a concentrações menores de extrato) foi possível notar alterações estruturais da radícula, as mesmas alterações não foram vistas nas radículas que emergiram das sementes do grupo controle (FIGURA 21).

FIGURA 21 - GERMINAÇÃO DAS SEMENTES DE *LACTUCA SATIVA* COM EXTRATO DE *K. laetivires*

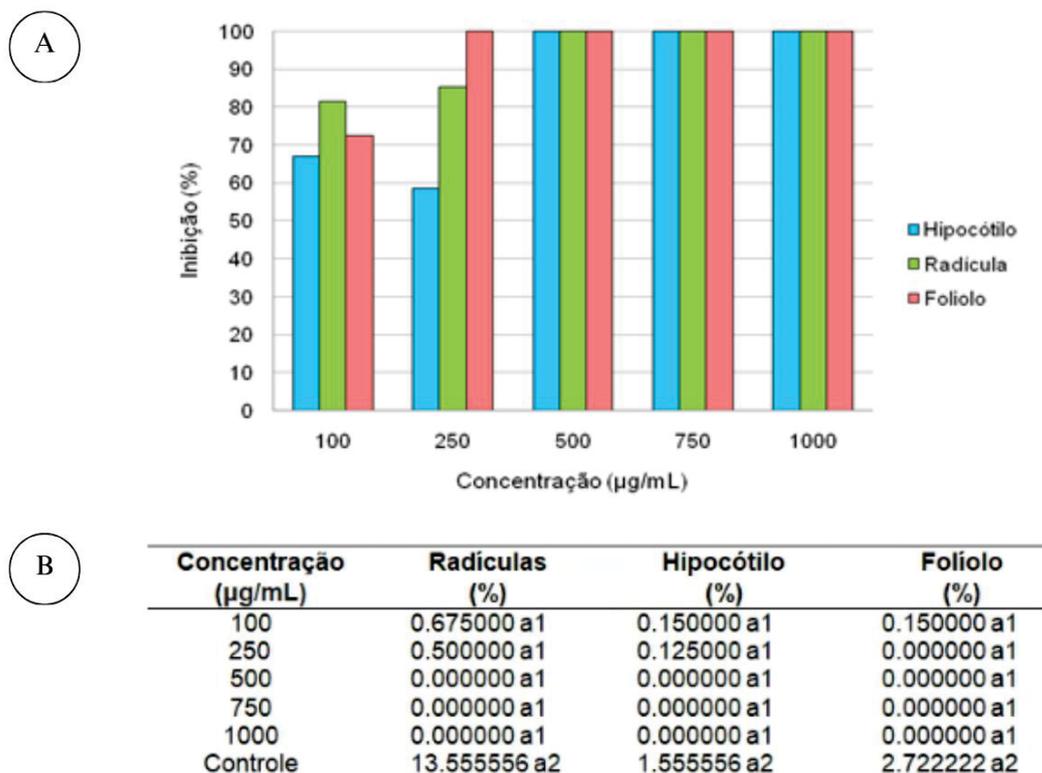


NOTA: A – Controle positivo (água e solvente); B, C, D, E, F – testes nas concentrações de 100, 250, 500, 750, 1000  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente.

FONTE: O autor (2019).

A figura 22-A mostra a porcentagem de inibição do crescimento de plântulas de *Lactuca sativa* frente às concentrações utilizadas do extrato bruto *K. laetivires*. Nessa figura (22-A) não consta o controle, pois nesse grupo houve a germinação de todas as sementes. A porcentagem média de crescimento da radícula, hipocótilo e folíolo, foi obtida a partir das medidas em milímetros de todas as sementes que germinaram, foi analisada pelo teste Scott-Knott e podem ser visualizadas na figura 22-B. Na figura 23 mostra o IVG, significativamente influenciado já nas menores concentrações (100, 250 e 500  $\mu\text{g/mL}$ ) e nas maiores concentrações a velocidade de germinação foi ainda menor. Portanto, nas figuras 22 e 23 podemos visualizar também que a fitotoxicidade foi concentração dependente, o mesmo resultado foi relatado por outros estudos realizados, como na avaliação da alelopatia em espécie de *Caesalpinia ferrea* (DE OLIVEIRA *et al.*, 2012).

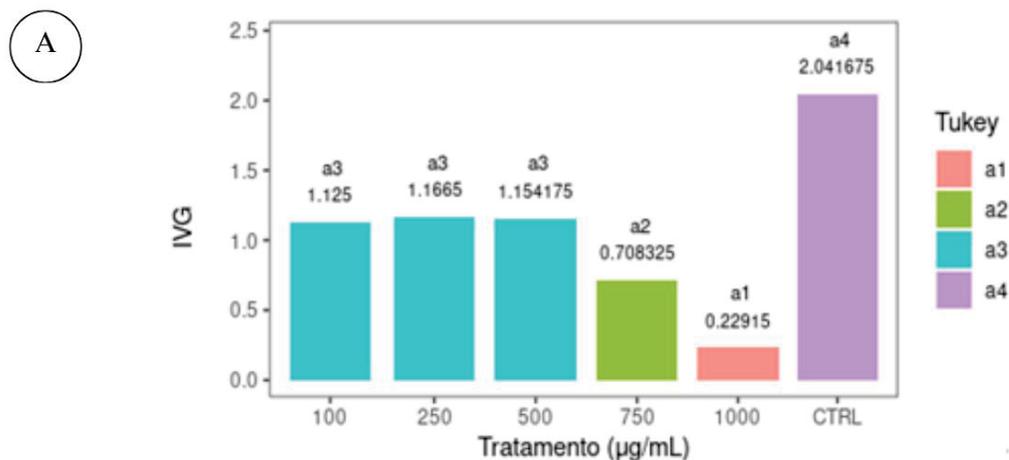
FIGURA 22 - AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO (%) EM CAIXA GERBOX DE RADÍCULAS, HIPOCÓTILO, FOLÍOLO DE PLÂNTULAS DE *Lactuca sativa* FRENTE A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DO EXTRATO BRUTO CETÔNICO DE *K. laetivirens*



NOTA: **A** - Avaliação da inibição (%) de crescimento da radícula, hipocótilo e folíolo de *Lactuca sativa* frente a diferentes concentrações do extrato de *K. laetivirens*; **B** - Valores seguidos de letras semelhantes não diferem estatisticamente entre si por meio do teste Scott-Knott (CENTENARO *et al.*, 2009).

FONTE: O autor (2020).

FIGURA 23 – AVALIAÇÃO DO ÍNDICE DE VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DE *Lactuca sativa* FRENTE A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DO EXTRATO DE *K. laetivirens*



**B**

Concentração (µg/mL)	IVG
100	1.125000 a3
250	1.166500 a3
500	1.154175 a3
750	0.708325 a2
1000	0.229150 a1
Controle	1.125000 a3

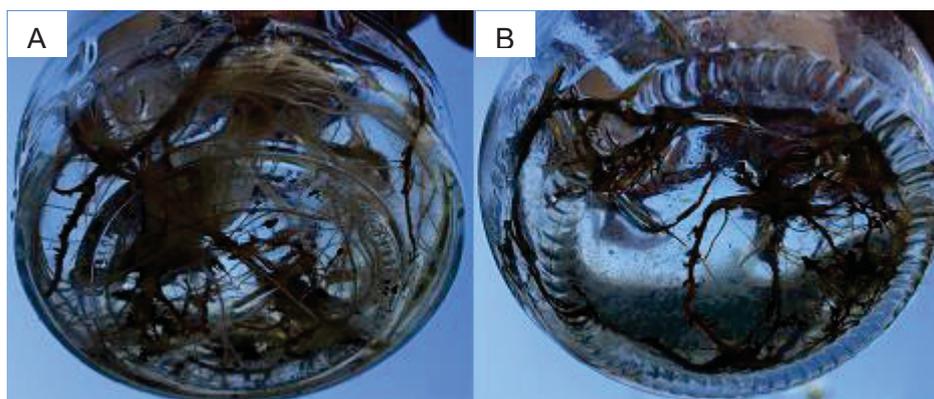
NOTA: **A** - Avaliação do índice de velocidade de germinação de *Lactuca sativa* frente a diferentes concentrações do extrato de *K. laetivirens*; **B** - Valores seguidos de letras semelhantes não diferem estatisticamente entre si por meio do teste Scott-Knott (CENTENARO *et al.*, 2009).

FONTE: O autor (2023).

#### 4.3.7.4 Avaliação do potencial alelopático do sumo de *K. laetivirens* em estacas de *K. laetivirens*.

Após 20 dias, foram notadas diferenças nas raízes das estacas tratadas com o sumo, como coloração escura, elas também ficaram mais frágeis, finas e ressecadas. Além disso, as raízes das estacas tratadas com sumo não se desenvolveram como as raízes das estacas tratadas apenas com água (FIGURA 24 e 25). Não foi possível realizar a análise estatística, pois não foi possível medir as raízes.

FIGURA 24 – AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ALELOPÁTICO DO SUMO EM ESTACAS DE *K. laetiveres*



Nota: A - raízes de estacas tratadas com água; B - raízes das estacas tratadas com sumo.

FONTE: O autor (2019).

FIGURA 25 – AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ALELOPÁTICO DO SUMO EM ESTACAS DE *K. laetiveres*



Nota: A – plântulas correspondentes ao grupo controle, tratadas com água; B - plântulas correspondentes ao grupo teste tratadas com sumo.

FONTE: O autor (2019).

O potencial alelopático observado nos ensaios pode explicar a invasividade descrita para espécies, vários estudos tentam explicar e levantar os motivos que levam a ampla expansão de *Kalanchoe* (VARGAS *et al.*, 2022) As espécies são consideradas invasoras dependendo da região geográfica e das suas espécies nativas, em um estudo sobre registros biológicos e espécies exóticas invasoras, a *K. pinnata* foi mencionada como sendo a responsável pela formação de um “tapete” denso que acaba deslocando a vegetação nativa (VARGAS *et al.*, 2022). O resultado observado através da avaliação alelopática do sumo de *K. laetiverens* em mudas da mesma espécie sugere que provavelmente as folhas contêm

aleloquímicos extraíveis com água, que podem perturbar a divisão celular e afetar algumas atividades enzimáticas (MWENDWA *et al.*, 2022).

Em *Leucaena leucocephala*, citada como uma das mais agressivas espécies invasoras do mundo, os seguintes aleloquímicos foram isolados: ácido p-hidroxibenzóico, ácido protocatecuico, ácido vanílico, ácido gálico, ácido p-hidroxifenilacético, ácido p-hidroxicinâmico, ácido cafeico, ácido ferúlico (ácidos fenólicos), epicatequina, epigalocatequina, galocatequina, quercetina, mimosina (MWENDWA *et al.*, 2022).

Corroborando com os resultados obtidos na primeira avaliação alelopática, (interação dos metabolitos presente no extrato de *K. laetivirens* com a semente de *Lactuca sativa*) outras espécies invasoras também apresentaram potencial alelopático inibitório dependente de concentração, devido à presença de ácidos fenólicos. As citadas foram: *Ageratum conyzoides* (ácido gálico, ácido p-hidroxibenzóico, ácido ferúlico e ácido p-cumárico), *Lantana camara*, *Eucalyptus tereticornis*, *E. camaldulensis*, *E. polycarpa* *E. microtheca* (p-cumárico, gálico, gentísico, p-hidroxibenzóico, seringo e ácidos vanílicos e catecol) (MWENDWA *et al.*, 2022).

Diferentes fenólicos constituem a classe mais importante de aleloquímicos vegetais e são capazes de inibir a germinação, pois aumentam a permeabilidade da membrana celular. Essa perturbação na membrana celular, conseqüentemente altera o equilíbrio hídrico, dessa maneira, provavelmente, algumas vias metabólicas ficam comprometidas pela inibição enzimática, resultando na diminuição na absorção de nutrientes, síntese de fitohormônios, síntese de proteínas, respiração e por fim provocando a inibição da divisão celular (LI *et al.*, 2010). A alteração na respiração causada devido às alterações nos estômatos por aleloquímicos fenólicos resulta na diminuição da taxa fotossintética e na produção de clorofila. Estes foram os motivos relatados para a inibição do crescimento de soja (*Glycine max*) pelos seguintes metabolitos: ácido caféico, ácido clorogênico, ácido t-cinâmico, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, ácido gálico, p-hidroxibenzaldeído, ácido 5-sulfosalicílico, ácido vanílico e vanilina (PATTERSON, 1981). Estudos mostraram que os aleloquímicos fenólicos do ácido ferúlico também foram capazes de ativar a síntese de ácido abscísico, hormônio vegetal sintetizado principalmente nas folhas, que atua na inibição do crescimento caulinar e radicular (CHEN *et al.*, 2022).

O aleloquímico 3-(1-oxo-3-fenilpropil)-1, 1,5-trimetilciclo-hexano-2,4,6-triona, conhecido como dihidrocalcona mirigalona A ou chalcona (cetona aromática de ocorrência natural) foi capaz de inibir a germinação de sementes de *Lepidium sativum* (agrião) (NAKABAYASHI *et al.*, 2022). Essa fitotoxina, pertence à classe dos flavonoides e demonstrou aumentar a permeabilidade da membrana celular, especificamente da testa (tegumento da semente) (FERREIRA *et al.*, 2018; NAKABAYASHI *et al.*, 2022). O composto mirigalona A foi identificado nos frutos e folhas de *Myrica gale* (família Myricaceae) e demonstrou fitotoxicidade em *Fallopia x bohemica*, uma espécie invasora, sugerindo ser um potente herbicida natural (POPOVICI *et al.*, 2011). Uma série de alterações moleculares independentes e dependentes de auxinas (hormônio vegetal produzido pelas células meristemáticas, principalmente no ápice do caule) foram elucidadas e descritas com o objetivo explicar a fitotoxicidade desenvolvida pela mirigalona A, entre elas o atraso da ruptura do endosperma (concentração dependente), alteração da giberelina (hormônio que atua na germinação da semente), no metabolismo do jasmonato e expressão de genes transportadores de hormônios (especialmente os envolvidos com o transporte de auxinas), sinalização oxidativa, aquaporinas e captação de água (NAKABAYASHI *et al.*, 2022). Plantas ricas em polifenóis têm sido usadas para curar várias doenças, os flavonoides constituem um grupo composto por mais de 9000 moléculas, apresentam funções farmacológicas por serem capazes de provocar a inibição de algumas enzimas envolvidas na geração de radicais livres, incluindo lipoxigenase, ciclooxigenase, mono-oxigenase microssômica, xantina oxidase e glutathione S-transferase (GST). As funções biológicas relacionadas a estes bioativos são de extrema importância para a planta, as principais estão relacionadas com proteção ultravioleta, alelopatia e sinalização (KHALID *et al.*, 2019).

Em relação à citotoxicidade de *Kalanchoe* em células cancerosas, a *K. pinnata* apresentou metabólitos (ácido gálico, ácido p-cumárico, kaempferol, quercetina) que podem interferir vias envolvidas com o processo de progressão do tumor, resultando na inibição da proliferação celular, indução da apoptose, migração celular, angiogênese e regular processos como estresse oxidativo ou autofagia (HERNÁNDEZ-CABALLERO *et al.*, 2022).

A briofilina (bufadienolídeo) foi isolada de *K. pinnata*, mostrou-se ser um potente agente contra diferentes tipos de células tumorais (MILAD *et al.*, 2014). Os

bufadienólídeos apresentam uma gama de atividades biológicas (cardiotônicas, anticancerígenas, antiangiogênicas, antivirais, imunomoduladoras e antibacterianas), a *Kalanchoe* é uma fonte natural desses compostos. Entretanto também foram relatados como responsáveis por envenenamentos acidentais ocasionados em animais domésticos e gados (STEFANOWICZ-HAJDUK *et al.*, 2023). Fração rica em bufadienólídeos de *K. daigremontiana* foi testada em plaquetas sanguíneas, nenhuma citotoxicidade foi observada, mas apresentou risco para humanos que se alimentavam de plantas contendo bufadienólídeos na África do Sul (KOLODZIEJCZYK-CZEPAS; STOCHMAL, 2017b).

As plantas do gênero *Kalanchoe* são conhecidas por conter flavonoides, alcaloides, ácidos fenólicos, saponinas, taninos e bufadienólídeos. Supõe-se que o potencial alelopático observado pode ser devido aos flavonoides, ácidos fenólicos e bufadienólídeos, que podem estar presentes também na espécie *K. laetivirens*, embora ainda não existam dados sobre a composição do extrato desta espécie (MOURA *et al.*, 2021).

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio das revisões integrativas foi possível selecionar compostos isolados e ou extratos que apresentaram potencial antiviral, desta forma direcionando futuros estudos de bioatividades. O capítulo 1 desta tese corresponde à primeira revisão realizada, onde diferentes plantas foram citadas e várias moléculas foram apresentadas como compostos protótipos no desenvolvimento de antivirais. Esses compostos, na grande maioria flavonoides e ácidos fenólicos, foram capazes de inibir uma enzima específica (RdRp) envolvida na replicação. Paralelamente, a segunda revisão reuniu estudos que demonstraram o potencial do gênero *Kalanchoe* como fonte de metabólitos antivirais promissores, também da classe dos fenólicos e flavonoides.

A procura por novas moléculas é uma necessidade, muitas pesquisas estão sendo feitas com espécies do gênero *Kalanchoe*. Os aleloquímicos fenólicos e da classe dos flavonoides podem alterar diversas vias de sinalização. Portanto, a avaliação de habilidades alelopáticas de produtos naturais, também pode auxiliar o direcionamento de estudos farmacológicos. Conforme os resultados obtidos pelas revisões integrativas realizadas no capítulo 1 e 2, muitos compostos citados que apresentaram atividades antivirais também apresentaram potencial alelopático em outros estudos, como quercetina e ácido gálico. A falta de estudos da espécie *K. laetivirens* e os resultados obtidos no capítulo 3, como a baixa citotoxicidade e o potencial alelopático, sugerem que esta espécie pode ser muito promissora em estudos de atividades biológicas tanto de interesse agrônômico, como farmacológico.

### 5.1 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Pouco se sabe ainda sobre a espécie *K. laetivirens*, é necessário que se faça a elucidação dos constituintes químicos presentes no extrato aquoso, extrato cetônico, etanólico e óleo essencial da espécie. Inicialmente, sugere-se o estudo fitoquímico do extrato cetônico, utilizado nos ensaios descritos no capítulo 3. Além disso, recomenda-se realizar a extração de uma quantidade maior de óleo essencial e a caracterização de todos os seus constituintes, após, realizar ensaios para avaliar o potencial alelopático do óleo essencial de *K. laetivirens* em diferentes modelos.

Recomenda-se também a avaliação do potencial alelopático do sumo em diferentes sementes e estacas. E como atividade farmacológica principal recomenda-se a avaliação de todos os extratos em ensaios antivirais.

## REFERÊNCIAS

AARTSMA, Y.; BIANCHI, F. J. J. A.; VAN DER WERF, W.; POELMAN, E. H.; DICKE, M. Herbivore-induced plant volatiles and tritrophic interactions across spatial scales. **New Phytologist**, v. 216, n. 4, p. 1054–1063, 14. dez. 2017. John Wiley & Sons, Ltd. DOI: 10.1111/NPH.14475.

ABUBAKAR, A. R.; HAQUE, M. Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, v. 12, n. 1, p. 1–10, 2020. Wolters Kluwer Medknow Publications. DOI: 10.4103/JPBS.JPBS\_175\_19.

ADEGAS, F.; VOLL, E. Embebição e germinação de sementes de picão-preto (*Bidens pilosa*). **Planta Daninha**, v. 21, n. 1, p. 21–25, 2003. FapUNIFESP (SciELO). DOI: 10.1590/s0100-83582003000100003.

AEJAZUDDIN, D. Q. M. (PDF) Neutraceuticals: Importance and Advances in Medicine and Health. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/291521735\\_Neutraceuticals\\_Importance\\_and\\_Advances\\_in\\_Medicine\\_and\\_Health](https://www.researchgate.net/publication/291521735_Neutraceuticals_Importance_and_Advances_in_Medicine_and_Health)>. Acesso em: 5/7/2023.

AKULOVA-BARLOW, Z. *Kalanchoe*. **Cactus and Succulent Journal**, v. 81, n. 6, p. 268–276, 2009. Cactus and Succulent Society of America. DOI: 10.2985/015.081.0601.

ALBENDÍN, M. G.; ARANDA, V.; COELLO, M. D.; *et al.* Pharmaceutical Products and Pesticides Toxicity Associated with Microplastics (Polyvinyl Chloride) in *Artemia salina*. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 20, p. 10773, 2021. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. DOI: 10.3390/IJERPH182010773.

AMIR, M.; ZAFAR, A.; AHMAD, R.; *et al.* Quality Control Standardization, Contaminant Detection and In Vitro Antioxidant Activity of *Prunus domestica* Linn. Fruit. **Plants**, v. 11, n. 5, p. 706, 2022. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. DOI: 10.3390/PLANTS11050706.

ANDRADE, E. A. DE; MACHINSKI, I.; TERSO VENTURA, A. C.; *et al.* A Review of the Popular Uses, Anatomical, Chemical, and Biological Aspects of *Kalanchoe* (Crassulaceae): A Genus of Plants Known as “Miracle Leaf”. **Molecules**, v. 28, n. 14, p. 5574, 2023. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. DOI: 10.3390/MOLECULES28145574.

AOKI, C.; HARTATI, S.; SANTI, M. R.; *et al.* Isolation and identification of substances with anti-hepatitis c virus activities from *kalanchoe pinnata*. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 2, p. 211–215, 2014. IJPPS. Disponível em: <<https://scholar.ui.ac.id/en/publications/isolation-and-identification-of-substances-with-anti-hepatitis-c->>. Acesso em: 29/6/2023.

DE ARAÚJO, E. R. D.; FÉLIX-SILVA, J.; XAVIER-SANTOS, J. B.; *et al.* Local anti-inflammatory activity: Topical formulation containing *Kalanchoe brasiliensis* and *Kalanchoe pinnata* leaf aqueous extract. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 113, p. 108721, 2019. Elsevier Masson. DOI: 10.1016/J.BIOPHA.2019.108721.

DE ARAUJO, E. R. D.; GUERRA, G. C. B.; ARAUJO, D. F. DE S.; *et al.* Gastroprotective and Antioxidant Activity of *Kalanchoe brasiliensis* and *Kalanchoe pinnata* Leaf Juices against Indomethacin and Ethanol-Induced Gastric Lesions in Rats. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 5, 2018. Switzerland. DOI: 10.3390/ijms19051265.

ASIEDU-GYEKYE, I. J.; ANTWI, D. A.; AWORTWE, C.; N'GUESSAN, B. B.; NYARKO, A. K. Short-term administration of an aqueous extract of *kalanchoe integra* var. *crenata* (Andr.) Cuf leaves produces no major organ damage in Sprague-Dawley rats. **Journal of ethnopharmacology**, v. 151, n. 2, p. 891–6, 2014. Ireland. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24315852>>.

ASIEDU-GYEKYE, I. J.; ANTWI, D. A.; BUGYEI, K. A.; AWORTWE, C. Comparative study of two *kalanchoe* species: total flavonoid, phenolic contents and antioxidant properties. **African Journal of Pure and Applied Chemistry**, v. 6, n. 5, p. 65–73, 2012. Disponível em: <<http://www.academicjournals.org/AJPAC>>. Acesso em: 29/6/2023.

ASUZU, P. C.; TROMPETER, N. S.; COOPER, C. R.; BESONG, S. A.; ARYEE, A. N. A. Cell Culture-Based Assessment of Toxicity and Therapeutics of Phytochemical Antioxidants. **Molecules**, v. 27, n. 3, p. 1087, 2022. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. DOI: 10.3390/MOLECULES27031087.

AURORA, Y.; TARIGAN, I. P. N.; SURYANTO, N. M. M.; *et al.* Identification of Flavonoids of *Kalanchoe Pinnata* as Candidate Drugs for COVID-19 Gamma-Variant Treatment. **Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences**, v. 18, n. 6, p. 630–643, 2022. Penerbit UTM Press. Disponível em: <<https://mjfas.utm.my/index.php/mjfas/article/view/2594>>. Acesso em: 29/6/2023.

BAILEY, L. H. Manual of cultivated plants: a flora for the identification of the most common or significant species of plants grown in the continental United States and Canada, for food, ornament, utility, and general interest, both in the open and under glass: Core Historical Literature of Agriculture. Disponível em: <<https://digital.library.cornell.edu/catalog/chla3144681>>. Acesso em: 5/7/2023.

BANERJEE, A.; KUNWAR, A.; MISHRA, B.; PRIYADARSINI, K. I. Concentration dependent antioxidant/pro-oxidant activity of curcumin studies from AAPH induced hemolysis of RBCs. **Chemico-biological interactions**, v. 174, n. 2, p. 134–139, 2008. Chem Biol Interact. DOI: 10.1016/J.CBI.2008.05.009.

BOGUCKA-KOCKA, A.; ZIDORN, C.; KASPRZYCKA, M.; SZYMCZAK, G.; SZEWCZYK, K. Phenolic acid content, antioxidant and cytotoxic activities of four *Kalanchoe* species. **Saudi journal of biological sciences**, v. 25, n. 4, p. 622–630, 2018. Saudi Arabia. DOI: 10.1016/j.sjbs.2016.01.037.

BOYLE, T. J. B.; BOONTAWEE, B. Measuring and monitoring biodiversity in tropical and temperate forests: proceedings of a IUFRO symposium held at Chiang Mai, Thailand August 27th-September 2nd 1994. , 1995. Center for International Forestry Research. Disponível em: <<https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/17971>>. Acesso em: 5/7/2023.

BOZARI, S.; AGAR, G.; AKSAKAL, O.; ERTURK, F. A.; YANMIS, D. Determination of chemical composition and genotoxic effects of essential oil obtained from *Nepeta nuda* on *Zea mays* seedlings. **Sage Journals Home**, v. 29, n. 4, p. 339–348, 2012. SAGE Publications Sage UK: London, England. DOI: 10.1177/0748233711433939.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopéia Brasileira 4ª edição**. v. 1, 1988. Brasília, DF. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira/arquivos/8036json-file-1>>. Acesso em: 16/10/2023.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopéia Brasileira 6ª edição**. v. 2, 2019a. Brasília, DF. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira/6a-edicao-volume-2>>. Acesso em: 14/10/2023.

BRASIL. RENISUS - Relação Nacional de Plantas Mediciniais de Interesse ao SUS. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sectics/daf/pnpmf/ppnpmf/arquivos/2014/renisus.pdf>>. Acesso em: 26/3/2019b.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Disponível em: <<https://antigo.mma.gov.br/>>. Acesso em: 3/11/2023.

BURGOS, A.; MIRANDA, E.; VILAPRINYO, E.; MEZA-CANALES, I. D.; ALVES, R. CAM Models: Lessons and Implications for CAM Evolution. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 893095, 2022. Frontiers Media S.A. DOI: 10.3389/FPLS.2022.893095/BIBTEX.

CANSIAN, F. C.; LIMA, C. P. DE; ZORTÉA, F. M.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D. Potencial alelopático de *Tynanthus micranthus* Corr. Mello ex. Schum. (Bignoniaceae) sobre diásporos de *Lactuca sativa* L. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 1, p. 137–140, 2013. DOI: 10.1590/S0102-695X2005000300011.

DE CARVALHO, J. L. S.; CUNICO, M. M.; DE DIAS, J. F. G.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Termoestabilidade de processos extrativos de *Nasturtium officinale* R. Br., brassicaceae por sistema Soxhlet modificado. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 1031–1035, 2009. Sociedade Brasileira de Química. DOI: 10.1590/S0100-40422009000400034.

CASANOVA, J. M.; DOS SANTOS NASCIMENTO, L. B.; CASANOVA, L. M.; *et al.* Differential Distribution of Flavonoids and Phenolic Acids in Leaves of *Kalanchoe delagoensis* Ecklon & Zeyher (Crassulaceae). **Microscopy and Microanalysis**, v. 26, n. 5, p. 1061–1068, 2020. Oxford Academic. DOI: 10.1017/S1431927620024344.

CENTENARO, C.; CORRÊA, L. G. P.; KARAS, M. J.; *et al.* Contribuição ao estudo alelopático de *Erythrina velutina* Willd: , Fabaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1 B, p. 304–308, 2009. Sociedade Brasileira de Farmacognosia. DOI: 10.1590/S0102-695X2009000200021.

CHAUDHURI, S.; BANERJEE, A.; BASU, K.; SENGUPTA, B.; SENGUPTA, P. K. Interaction of flavonoids with red blood cell membrane lipids and proteins: antioxidant and antihemolytic effects. **International journal of biological macromolecules**, v. 41, n. 1, p. 42–48, 2007. Int J Biol Macromol. DOI: 10.1016/J.IJBIOMAC.2006.12.003.

CHEBI. (2Z)-hexenal (CHEBI:18554). Disponível em: <<https://www.ebi.ac.uk/chebi/searchId.do?chebId=CHEBI:18554>>. Acesso em: 15/10/2023.

CHEN, M.; QIAO, Y.; QUAN, X.; SHI, H.; DUAN, Z. Physiological, biochemical and phytohormone responses of *Elymus nutans* to  $\alpha$ -pinene-induced allelopathy. **PeerJ**, v. 10, p. e14100, 2022. PeerJ Inc. DOI: 10.7717/PEERJ.14100/SUPP-3.

CHEN, Y.; KIRCHMAIR, J. Cheminformatics in Natural Product-based Drug Discovery. **Molecular Informatics**, v. 39, n. 12, p. 2000171, 2020. John Wiley & Sons, Ltd. DOI: 10.1002/MINF.202000171.

CHON, S. U.; JANG, H. G.; KIM, D. K.; *et al.* Allelopathic potential in lettuce (*Lactuca sativa* L.) plants. **Scientia Horticulturae**, v. 106, n. 3, p. 309–317, 2005. Elsevier. DOI: 10.1016/J.SCIENTA.2005.04.005.

CHOPRA, B.; DHINGRA, A. K. Natural products: A lead for drug discovery and development. **Phytotherapy Research**, v. 35, n. 9, p. 4660–4702, 2021. John Wiley & Sons, Ltd. DOI: 10.1002/PTR.7099.

COLUNGA BIANCATELLI, R. M. L.; BERRILL, M.; CATRAVAS, J. D.; MARIK, P. E. Quercetin and Vitamin C: An Experimental, Synergistic Therapy for the Prevention and Treatment of SARS-CoV-2 Related Disease (COVID-19). **Frontiers in immunology**, v. 11, 2020. Front Immunol. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32636851/>>. Acesso em: 5/7/2023.

CRUZ, E. A.; REUTER, S.; MARTIN, H.; *et al.* *Kalanchoe pinnata* inhibits mast cell activation and prevents allergic airway disease. **Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology**, v. 19, n. 2, p. 115–121, 2012. Germany. DOI: 10.1016/j.phymed.2011.06.030.

CRYER, M.; LANE, K.; GREER, M.; *et al.* Isolation and identification of compounds from *Kalanchoe pinnata* having human alphaherpesvirus and vaccinia virus antiviral activity. **Pharmaceutical biology**, v. 55, n. 1, p. 1586–1591, 2017. England.

CURREY, C. J.; ERWIN, J. E. Photoperiodic Flower Induction of Several *Kalanchoe* Species and Ornamental Characteristics of the Flowering Species. **HortScience**, v. 46, n. 1, p. 35–39, 2011. American Society for Horticultural Science. DOI: 10.21273/HORTSCI.46.1.35.

DAYAN, F. E.; DUKE, S. O. Natural Compounds as Next-Generation Herbicides. **Plant Physiology**, v. 166, n. 3, p. 1090–1105, 2014. Oxford Academic. DOI: 10.1104/PP.114.239061.

DE; FEO, V.; DE; SIMONE, F.; SENATORE, F. Potential allelochemicals from the essential oil of *Ruta graveolens*. **Phytochemistry**, v. 61, n. 5, p. 573–578, 2002. DOI: 10.1016/s0031-9422(02)00284-4.

DIAS, J. F. G.; CÍRIO, G. M.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Contribuição ao estudo alelopático de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., Celastraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 3, p. 220–223, 2005. Sociedade Brasileira de Farmacognosia. DOI: 10.1590/S0102-695X2005000300011.

DIRECT, S. Comprehensive Natural Products II. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/referencework/9780080453828/comprehensive-natural-products-ii>>. Acesso em: 15/10/2023.

DORĐEVIĆ, T.; SARIĆ-KRSMANOVIĆ, M.; GAJIĆ UMILJENDIĆ, J. Phenolic Compounds and Allelopathic Potential of Fermented and Unfermented Wheat and Corn Straw Extracts. **Chemistry & Biodiversity**, v. 16, n. 2, p. e1800420, 2019. John Wiley & Sons, Ltd. DOI: 10.1002/CBDV.201800420.

DUTRA, R. C.; CAMPOS, M. M.; SANTOS, A. R. S.; CALIXTO, J. B. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological Research**, v. 112, p. 4–29, 2016. Academic Press. DOI: 10.1016/J.PHRS.2016.01.021.

EID, O.; EZZAT, S.; GONAIID, M.; CHOUCRY, M. Crassulaceae (chemistry and pharmacology) - A review. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 2, p. 234–240, 2018. No longer published by Elsevier. DOI: 10.1016/J.FJPS.2018.07.003.

ESTUPIÑAN-AMAYA, M.; FUENMAYOR, C. A.; LÓPEZ-CÓRDOBA, A. New Freeze-Dried Andean Blueberry Juice Powders for Potential Application as Functional Food Ingredients: Effect of Maltodextrin on Bioactive and Morphological Features. **Molecules**, v. 25, n. 23, p. 5635, 2020. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. DOI:10.3390/MOLECULES25235635.

FAJINMI, O. O.; OLAREWAJU, O. O.; VAN STADEN, J. Propagation of Medicinal Plants for Sustainable Livelihoods, Economic Development, and Biodiversity Conservation in South Africa. **Plants**, v. 12, n. 5, p. 1174, 2023. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. DOI: 10.3390/PLANTS12051174.

FERNANDES, J. M.; FELIX-SILVA, J.; DA CUNHA, L. M.; *et al.* Inhibitory Effects of Hydroethanolic Leaf Extracts of *Kalanchoe brasiliensis* and *Kalanchoe pinnata* (Crassulaceae) against Local Effects Induced by *Bothrops jararaca* Snake Venom. **PloS one**, v. 11, n. 12, p. e0168658, 2016. United States. DOI: 10.1371/journal.pone.0168658.

FERREIRA, D. DA S.; SANTIAGO, P. A. L.; LIMA, B. R. DE; *et al.* Chemical characterization of a glycosylated cyanidin obtained from *Kalanchoe laetivirens* extracts and evaluation of its antimicrobial potential. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 14, p. e345101421483–e345101421483, 2021. Research, Society and Development. DOI: 10.33448/RSD-V10I14.21483.

FERREIRA, M. K. A.; FONTENELLE, R. O. S.; MAGALHÃES, F. E. A.; *et al.* Virtual Quim. [Vol 10] [No. 5] [1455-1473] Rev. **Virtual Quim**, v. 10, n. 5, p. 1455–1473, 2018. DOI: 10.21577/1984-6835.20180099.

FERREIRA, O. O.; DA SILVA, S. H. M.; DE OLIVEIRA, M. S.; ANDRADE, E. H. DE A. Chemical Composition and Antifungal Activity of *Myrcia multiflora* and *Eugenia florida* Essential Oils. **Molecules**, v. 26, n. 23, p. 7259, 2021. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. DOI: 10.3390/MOLECULES26237259.

FILHO, L. N. de S.; ALBARELLO, J. B.; CARDOZO, M. M.; FAITA, M. R.; SANTOS, C. M. R. dos. Reproductive biology of *Kalanchoe laetivirens* (Crassulaceae) in the edaphoclimatic conditions of Santa Catarina, Brazil. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. e27010111567, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i1.11567.

FOLQUITTO, D. G.; SWIECH, J. N. D.; PEREIRA, C. B.; *et al.* Biological activity, phytochemistry and traditional uses of genus *Lobelia* (Campanulaceae): A systematic review. **Fitoterapia**, v. 134, p. 23–38, 2019. Elsevier. DOI: 10.1016/J.FITOTE.2018.12.021.

FONSECA, A. G.; RIBEIRO DANTAS, L. L. S. F.; FERNANDES, J. M.; *et al.* In Vivo and In Vitro Toxicity Evaluation of Hydroethanolic Extract of *Kalanchoe brasiliensis* (Crassulaceae) Leaves. **Journal of toxicology**, v. 2018, p. 6849765, 2018. Egypt. DOI: 10.1155/2018/6849765.

GARCIA-SOGO, B.; PINEDA, B.; CASTELBLANQUE, L.; *et al.* Efficient transformation of *Kalanchoe blossfeldiana* and production of male-sterile plants by engineered anther ablation. **Plant cell reports**, v. 29, n. 1, p. 61–77, 2010. Germany.

GILMAN, I. S.; EDWARDS, E. J. Crassulacean acid metabolism. **Current Biology**, v. 30, n. 2, p. R57–R62, 2020. Cell Press. DOI: 10.1016/j.cub.2019.11.073.

GONG, P. Y.; YUAN, Z. X.; GU, J.; *et al.* Anti-HBV activities of three compounds extracted and purified from *Herpetospermum* seeds. **Molecules**, v. 22, n. 1, 2017. MDPI AG. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28035986/>>. Acesso em: 3/9/2020.

GOVEA-SALAS, M.; RIVAS-ESTILLA, A. M.; RODRÍGUEZ-HERRERA, R.; *et al.* Gallic acid decreases hepatitis C virus expression through its antioxidant capacity. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 11, n. 2, p. 619, 2015. Spandidos Publications. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC4734044/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28035986/)>. Acesso em: 5/7/2023.

HAN, M.; YANG, H.; HUANG, H.; *et al.* Allelopathy and allelobiosis: efficient and economical alternatives in agroecosystems. **Plant Biology**, 2023. John Wiley & Sons, Ltd. DOI: 10.1111/PLB.13582.

HASHEM, C.; HOCHRINNER, J.; BÜRGLER, M. B.; *et al.* From linoleic acid to hexanal and hexanol by whole cell catalysis with a lipoxygenase, hydroperoxide lyase and reductase cascade in *Komagataella phaffii*. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 9, p. 965315, 2022. Frontiers Media S.A. DOI: 10.3389/FMOLB.2022.965315/BIBTEX.

HERNADEZ, J. R.; AIME, M. C.; NEWBRY, B. *Aecidium kalanchoe* sp. nov., a new rust on *Kalanchoe blossfeldiana* (Crassulaceae). **Mycological research**, v. 108, n. Pt 7, p. 846–848, 2004. England. DOI: 10.1017/S0953756204000681.

HERNÁNDEZ-CABALLERO, M. E.; SIERRA-RAMÍREZ, J. A.; VILLALOBOS-VALENCIA, R.; SESEÑA-MÉNDEZ, E. Potential of *Kalanchoe pinnata* as a Cancer Treatment Adjuvant and an Epigenetic Regulator. **Molecules**, v. 27, n. 19, p. 6425, 2022. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. DOI: 10.3390/MOLECULES27196425.

HERRANDO-MORAIRA, S.; VITALES, D.; NUALART, N.; *et al.* Global distribution patterns and niche modelling of the invasive *Kalanchoe × houghtonii* (Crassulaceae). **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–18, 2020. Nature Publishing Group. DOI: 10.1038/s41598-020-60079-2.

HERRERA, I.; HERNANDEZ, M. J.; LAMPO, M.; NASSAR, J. M. Plantlet recruitment is the key demographic transition in invasion by *Kalanchoe daigremontiana*. **Population Ecology**, v. 54, n. 1, p. 225–237, 2012. John Wiley & Sons, Ltd. DOI: 10.1007/S10144-011-0282-5.

HUBER, P. C.; MARUIAMA, C. H.; ALMEIDA, W. P. Glicoproteína-P, resistência a múltiplas drogas (MDR) e relação estrutura-atividade de moduladores. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2148–2154, 2010. Sociedade Brasileira de Química. DOI: 10.1590/S0100-40422010001000027.

IPNI, I. P. N. *Bryophyllum*. Disponível em: <<https://www.ipni.org/n/urn:lsid:ipni.org:names:12130-1>>. Acesso em: 14/10/2023.

IPNI, I. P. N. *Kalanchoe*. Disponível em: <<https://www.ipni.org/n/urn:lsid:ipni.org:names:30060186-2>>. Acesso em: 14/10/2023.

JAEGER GREER, M. R.; CATES, R. G.; JOHNSON, F. B.; LAMNAOUER, D.; OHAI, L. Activity of acetone and methanol extracts from thirty-one medicinal plant species against herpes simplex virus types 1 and 2. **Pharmaceutical biology**, v. 48, n. 9, p. 1031–1037, 2010. England.

JIN, M.; WANG, C.; XU, Y.; *et al.* Pharmacological effects of salidroside on central nervous system diseases. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 156, p. 113746, 2022. Elsevier Masson. DOI: 10.1016/J.BIOPHA.2022.113746.

JOHNSON, S. N.; GREGORY, P. J.; GREENHAM, J. R.; ZHANG, X.; MURRAY, P. J. Attractive properties of an isoflavonoid found in white clover root nodules on the clover root weevil. **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, n. 9, p. 2223–2229, 2005. Springer. DOI: 10.1007/S10886-005-6355-1/METRICS.

JOSHI, B.; PANDA, S. K.; JOUNEGHANI, R. S.; *et al.* Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Anthelmintic Activities of Medicinal Plants of Nepal Selected Based on Ethnobotanical Evidence. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2020, 2020. Hindawi Limited.

KAEWPIBOON, C.; SRISUTTEE, R.; MALILAS, W.; *et al.* Extract of *Bryophyllum laetivirens* reverses etoposide resistance in human lung A549 cancer cells by downregulation of NF- $\kappa$ B. **Oncology reports**, v. 31, n. 1, p. 161–168, 2014. *Oncol Rep.* DOI: 10.3892/OR.2013.2844.

Kai Fan, Min Zhang & Arun S. Mujumdar (2019) Recent developments in high efficient freeze-drying of fruits and vegetables assisted by microwave: A review, **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 59:8, 1357-1366, DOI: 10.1080/10408398.2017.1420624

KHABIB, M. N. H.; SIVASANKU, Y.; LEE, H. B.; KUMAR, S.; KUE, C. S. Alternative animal models in predictive toxicology. **Toxicology**, v. 465, p. 153053, 2022. Elsevier. DOI: 10.1016/J.TOX.2021.153053.

KHALID, M.; SAEED-UR-RAHMAN; BILAL, M.; HUANG, D. FENG. Role of flavonoids in plant interactions with the environment and against human pathogens — A review. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 18, n. 1, p. 211–230, 2019. Elsevier. DOI: 10.1016/S2095-3119(19)62555-4.

KOEHN, F. E.; CARTER, G. T. The evolving role of natural products in drug discovery. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 4, n. 3, p. 206–220, 2005. Nature Publishing Group. DOI: 10.1038/nrd1657.

KOŁODZIEJCZYK-CZEPAS, J.; STOCHMAL, A. Bufadienolides of *Kalanchoe* species: an overview of chemical structure, biological activity and prospects for pharmacological use. **Phytochemistry reviews: proceedings of the Phytochemical Society of Europe**, v. 16, n. 6, p. 1155–1171, 2017a. Netherlands.

KOŁODZIEJCZYK-CZEPAS, J.; STOCHMAL, A. Bufadienolides of *Kalanchoe* species: an overview of chemical structure, biological activity and prospects for pharmacological use. **Phytochemistry Reviews**, v. 16, n. 6, p. 1155–1171, 2017b. Springer Netherlands. DOI: 10.1007/S11101-017-9525-1/TABLES/2.

KOUITCHEU MABEKU, L. B.; EYOUM BILLE, B.; TCHOUANGUEU, T. F.; NGUEPI, E.; LEUNDJI, H. Treatment of *Helicobacter pylori* infected mice with *Bryophyllum pinnatum*, a medicinal plant with antioxidant and antimicrobial properties, reduces bacterial load. **Pharmaceutical biology**, v. 55, n. 1, p. 603–610, 2017. England. DOI: 10.1080/13880209.2016.1266668.

KRAMBECK, K.; OLIVEIRA, A.; SANTOS, D.; *et al.* Identification and Quantification of Stilbenes (Piceatannol and Resveratrol) in *Passiflora edulis* By-Products. **Pharmaceuticals**, v. 13, n. 4, p. 73, 2020. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. DOI: 10.3390/PH13040073.

LAWSON, T.; EMMERSON, R.; BATTLE, M.; *et al.* Carbon fixation. **Photosynthesis in Action: Harvesting Light, Generating Electrons, Fixing Carbon**, p. 31–58, 2022. Academic Press. DOI: 10.1016/B978-0-12-823781-6.00008-3.

LEITE, D. R. B.; MANTOVANI, K. M.; CORDEIRO, S. P.; *et al.* RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) natural antiviral inhibitors: a review. **Medicinal Chemistry Research**, v. 31, n. 12, p. 2089–2102, 2022. Springer. DOI: 10.1007/S00044-022-02963-2/FIGURES/4.

LI, J. W. H.; VEDERAS, J. C. Drug Discovery and Natural Products: End of an Era or an Endless Frontier? **Science**, v. 325, n. 5937, p. 161–165, 2009. American Association for the Advancement of Science. DOI: 10.1126/SCIENCE.1168243.

LI, Z. H.; WANG, Q.; RUAN, X.; PAN, C. DE; JIANG, D. A. Phenolics and Plant Allelopathy. **Molecules**, v. 15, n. 12, p. 8933–8952, 2010. Molecular Diversity Preservation International. DOI: 10.3390/MOLECULES15128933.

LISBOA, A. A.; ALKMIN, D. V.; BRAGA, D. V. B. EFEITO DO EXTRATO AQUOSO DE FOLHAS DE FORTUNA NO BROTAMENTO E ENRAIZAMENTO DE ESTACAS DE ARRUDA. Disponível em: <<http://revista.fepi.br/revista/index.php/revista/article/viewFile/487/360>>. Acesso em: 3/11/2023.

MACÍAS, F. A.; GALINDO, J. C. G.; MOLINILLO, J. M. G.; CASTELLANO, D. Dehydrozaluzanin C: A potent plant growth regulator with potential use as a natural herbicide template. **Phytochemistry**, v. 54, n. 2, p. 165–171, 2000. Phytochemistry. DOI: 10.1016/S0031-9422(00)00070-4.

MAGUIRE, J. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop science*. **Crop science**, v. 2, n. 2, p. 176–177, 1962. DOI: 10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x.

MANGAO, A. M.; ARREOLA, S. L. B.; SAN GABRIEL, E. V.; SALAMANEZ, K. C. Aqueous extract from leaves of *Ludwigia hyssopifolia* (G. Don) Exell as potential bioherbicide. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 3, p. 1185–1194, 2020. John Wiley & Sons, Ltd. DOI: 10.1002/JSFA.10128.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Fealq, 2005.

MARMITT, D. J.; SHAHRAJABIAN, M. H. Plant species used in Brazil and Asia regions with toxic properties. **Phytotherapy Research**, v. 35, n. 9, p. 4703–4726, 2021. John Wiley & Sons, Ltd. DOI: 10.1002/PTR.7100.

MAYORGA, O. A. S.; DA COSTA, Y. F. G.; DA SILVA, J. B.; *et al.* *Kalanchoe brasiliensis* Cambess., a promising natural source of antioxidant and antibiotic agents against multidrug-resistant pathogens for the treatment of *Salmonella* gastroenteritis. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2019, 2019. Hindawi Limited. DOI: 10.1155/2019/9245951.

MCCREADY, K.; SPENCER, V.; JÁCOME-BLÁSQUEZ, F.; *et al.* TARGET OF RAPAMYCIN is essential for asexual vegetative reproduction in *Kalanchoë*. **Plant Physiology**, v. 189, n. 1, p. 248–263, 2022. Oxford Academic. DOI: 10.1093/plphys/kiab589.

MENDONÇA, L. A. B. M.; MATIAS, R.; ZANELLA, D. F. P.; *et al.* Toxicity and phytochemistry of eight species used in the traditional medicine of sul-mato-grossense, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 80, n. 3, p. 574–581, 2019. Instituto Internacional de Ecologia. DOI: 10.1590/1519-6984.216406.

MESQUITA, J. F. **ATIVIDADE ANTIFÚNGICA E ESTUDO FARMACOGNÓSTICO COMPARATIVO VICTOR HUGO PELLA LEGRAMANDI**. 2023.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; *et al.* Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta medica**, v. 45, n. 5, p. 31–34, 1982. Planta Med. DOI: 10.1055/S-2007-971236.

MILAD, R.; SHERWEIT EL-AHMADY; ABDEL NASSER SINGAB. Genus *Kalanchoe* (Crassulaceae): A Review of Its Ethnomedicinal, Botanical, Chemical and Pharmacological Properties. **European Journal of Medicinal Plants**, v. 4, n. 1, p. 86–104, 2014. DOI: 10.9734/EJMP/2014/5901.

MIZUNO, T.; UCHIYAMA, N.; TANAKA, S.; *et al.* Flavonoids from *Sedum japonicum* subsp. *oryzifolium* (Crassulaceae). **Molecules**, v. 27, n. 21, p. 7632, 2022. MDPI. DOI: 10.3390/MOLECULES27217632.

MOHAMED, N. Z.; SHAABAN, L.; SAFAN, S.; EL-SAYED, A. S. A. Phytochemical and metabolic profiling of the different *Podocarpus* species in Egypt: Potential antimicrobial and antiproliferative activities. **Heliyon**, v. 9, n. 9, p. e20034, 2023. Elsevier Ltd. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e20034.

MONTEIRO, S. DA C.; BRANDELLI, C. L. C. **Farmacobotânica: Aspectos Teóricos e Aplicação**. Artmed ed. 2017.

MORA-PEREZ, A.; HERNANDEZ-MEDEL, M. DEL R. Anticonvulsant activity of methanolic extract from *Kalanchoe pinnata* Lam. stems and roots in mice: A comparison to diazepam. **Neurologia (Barcelona, Spain)**, v. 31, n. 3, p. 161–168, 2016. Spain. DOI: 10.1016/j.nrl.2015.06.008.

MORAIS, M. C.; LORENZO, P.; KATO-NOGUCHI, H. Allelopathy of Knotweeds as Invasive Plants. **Plants**, v. 11, n. 1, p. 3, 2021. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. DOI: 10.3390/PLANTS11010003.

MOURA, F. H. F.; CORRÊA, R. C. G.; LIMA, B. V.; *et al.* Análise da atividade biológica de *kalanchoe daigremontiana*. DOI: 10.37118/ijdr.21645.05.2021.

MWENDWA, J. M.; LATIF, S.; KATO-NOGUCHI, H.; KURNIADIE, D. Allelopathy and Allelochemicals of *Leucaenaleucocephala* as an Invasive Plant Species. **Plants**, v. 11, n. 13, p. 1672, 2022. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. DOI: 10.3390/PLANTS11131672.

NAKABAYASHI, K.; WALKER, M.; IRWIN, D.; *et al.* The Phytotoxin Myriganone A Triggers a Phased Detoxification Programme and Inhibits *Lepidium sativum* Seed Germination via Multiple Mechanisms Including Interference with Auxin Homeostasis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 9, p. 4618, 2022. MDPI. DOI: 10.3390/IJMS23094618/S1.

NASCIMENTO, L. B. DOS S.; CASANOVA, L. M.; COSTA, S. S. Bioactive Compounds from *Kalanchoe* Genus Potentially Useful for the Development of New Drugs. **Life**, v. 13, n. 3, p. 646, 2023. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. DOI: 10.3390/LIFE13030646.

DE OLIVEIRA, A. K.; COELHO, M. DE F. B.; MAIA, S. S. S.; DIÓGENES, F. E. P. Atividade alelopática de extratos de diferentes órgãos de *Caesalpinia ferrea* na germinação de alface. **Ciência Rural**, v. 42, n. 8, p. 1397–1403, 2012. Universidade Federal de Santa Maria. DOI: 10.1590/S0103-84782012000800011.

OLIVEIRA, D. G.; PRINCE, K. A.; HIGUCHI, C. T.; *et al.* Antimycobacterial activity of some Brazilian indigenous medicinal drinks. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 2, p. 165–169, 2007. Disponível em: <<https://rcfba.fcfar.unesp.br/index.php/ojs/article/view/519>>. Acesso em: 2/11/2023.

PANDHARE, R. B.; SHENDE, R. R.; AVHAD, M. S.; *et al.* Anti-urolithiatic activity of *Bryophyllum pinnatum* Lam. hydroalcoholic extract in sodium oxalate-induced urolithiasis in rats. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 11, n. 6, p. 545–551, 2021. Elsevier. DOI: 10.1016/J.JTCME.2021.06.002.

PARK, K. C.; MCNEILL, M.; UNELIUS, C. R.; OH, H. W.; SUCKLING, D. M. Characterization of olfactory receptor neurons for pheromone candidate and plant volatile compounds in the clover root weevil, *Sitona lepidus*. **Journal of Insect Physiology**, v. 59, n. 12, p. 1222–1234, 2013. Pergamon. DOI: 10.1016/J.JINSPHYS.2013.10.002.

PATTERSON, D. T. Effects of Allelopathic Chemicals on Growth and Physiological Responses of Soybean (*Glycine max*). **Weed Science**, v. 29, n. 1, p. 53–59, 1981. Cambridge University Press. DOI: 10.1017/S0043174500025820.

PATTEWAR, S. V. *KALANCHOE PINNATA*: PHYTOCHEMICAL AND PHARMACOLOGICAL PROFILE. **INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES AND RESEARCH**, 2012. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.3(4).993-00.

PAUL, A.; CHAKRABORTY, N.; SARKAR, A.; *et al.* Ethnopharmacological Potential of Phytochemicals and Phytogenic Products against Human RNA Viral Diseases as Preventive Therapeutics. **BioMed Research International**, v. 2023, 2023. Hindawi Limited. DOI: 10.1155/2023/1977602.

PERSÉE. *Le Journal de Botanique*. Disponível em: <<https://www.persee.fr/collection/jobot>>. Acesso em: 14/10/2023.

DI PETRILLO, A.; ORRÙ, G.; FAIS, A.; FANTINI, M. C. Quercetin and its derivatives as antiviral potentials: A comprehensive review. **Phytotherapy Research**, v. 36, n. 1, p. 266–278, 2022. John Wiley & Sons, Ltd. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ptr.7309>>. Acesso em: 29/6/2023.

PINO, J. A.; ROSADO, A.; SÁNCHEZ, E. Essential Oil of *Mentha spicata* L. from Cuba. **Journal of Essential Oil Research**, v. 10, n. 6, p. 657–659, 1998. Taylor & Francis Group. DOI: 10.1080/10412905.1998.9701001.

POPOVICI, J.; BERTRAND, C.; JACQUEMOUD, D.; *et al.* An allelochemical from *myrica gale* with strong phytotoxic activity against highly invasive *Fallopia x bohemica* taxa. **Molecules**, v. 16, n. 3, p. 2323–2333, 2011. Molecular Diversity Preservation International. DOI: 10.3390/molecules16032323.

PUBCHEM. PubChem. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>>. Acesso em: 15/10/2023.

RAMAKRISHNA, A.; RAVISHANKAR, G. A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signaling & Behavior**, v. 6, n. 11, p. 1720–1731, 2011. Taylor & Francis. DOI: 10.4161/PSB.6.11.17613.

RANZATO FILARDI, F. L.; DE BARROS, F.; BAUMGRATZ, J. F. A.; *et al.* Brazilian flora 2020: Innovation and collaboration to meet target 1 of the global strategy for plant conservation (GSPC). **Rodriguesia**, v. 69, n. 4, p. 1513–1527, 2018. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. DOI: 10.1590/2175-7860201869402.

RIBEIRO, R. V.; BIESKI, I. G. C.; BALOGUN, S. O.; MARTINS, D. T. DE O. Ethnobotanical study of medicinal plants used by Ribeirinhos in the North Araguaia microregion, Mato Grosso, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 205, p. 69–102, 2017. Elsevier. DOI: 10.1016/J.JEP.2017.04.023.

RICE, E. L. Allelopathy — An Overview. **Chemically Mediated Interactions between Plants and Other Organisms**, p. 81–105, 1985. Springer, Boston, MA. DOI: 10.1007/978-1-4757-9658-2\_4.

ROMEU, L. C. L.; BEZERRA, S. G. DE Q.; MEDEIROS, F. D. DE; SOBREIRA, A. L. DE C.; SOUZA, J. B. P. DE. Preparation and physicochemical quality control of elderflower raw material (*Sambucus nigra* L.). **Research, Society and Development**, v. 11, n. 7, p. e26811729884–e26811729884, 2022. Research, Society and Development. DOI: 10.33448/RSD-V11I7.29884.

SABRI, S.; IDREES, M.; RAFIQUE, S.; ALI, A.; IQBAL, M. Studies on the role of NS3 and NS5A non-structural genes of hepatitis C virus genotype 3a local isolates in apoptosis. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 25, p. 38–44, 2014. Elsevier.

SAKKAS, H.; PAPADOPOULOU, C. Antimicrobial Activity of Basil, Oregano, and Thyme Essential Oils. **J. Microbiol. Biotechnol.**, v. 27, n. 3, p. 429–438, 2017. Korean Society for Microbiology and Biotechnology. DOI: 10.4014/JMB.1608.08024.

SALEHI, B.; VLAISAVLJEVIC, S.; ADETUNJI, C. O.; *et al.* Plants of the genus *Vitis*: Phenolic compounds, anticancer properties and clinical relevance. **Trends in Food Science & Technology**, v. 91, p. 362–379, 2019. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.tifs.2019.07.042.

SCARANARI, C.; MARTINS LEAL, P. A.; PELLEGRINO, G. Q. Estudo de simulações de microclimas em casas de vegetação visando à aclimação de mudas micropropagadas de bananeira cv Grande Naine. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 4, p. 1001–1008, 2008. Sociedade Brasileira de Fruticultura. DOI: 10.1590/S0100-29452008000400027.

SCIENCE, K. *Kalanchoe laetivirens* Desc. | Plants of the World Online | Kew Science. Disponível em: <<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:20002953-1#source-KB>>. Acesso em: 14/10/2023.

SHANKER, A. K.; SHANKER, C.; ANAND, A.; MAHESWARI, M. **Climate change and crop stress : molecules to ecosystems**. Academic Press, 2022.

SILVA, D. R.; ENDO, E. H.; FILHO, B. P. D.; *et al.* Chemical Composition and Antimicrobial Properties of *Piper ovatum* Vahl. **Molecules**, v. 14, n. 3, p. 1171–1182, 2009. Molecular Diversity Preservation International. DOI: 10.3390/MOLECULES14031171.

SILVA, E. R.; IGARTUBURU, J. M.; OVERBECK, G. E.; SOARES, G. L. G.; MACÍAS, F. A. Bioherbicide Potential of *Eucalyptus saligna* Leaf Litter Essential Oil. **Chemistry & biodiversity**, v. 17, n. 9, 2020. Chem Biodivers. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32634284/>>. Acesso em: 2/11/2023.

DA SILVA, G. R.; JUSTINO, A.; RIBEIRO, S.; *et al.* Comparação do potencial antioxidante de extratos de *Kalanchoe daigremontiana* Raym.-Hamet & H. Perrier e *Kalanchoe laetivirens* aplicados em biodiesel / Comparison of antioxidant potential from *Kalanchoe daigremontiana* Raym.-Hamet & H. Perrier and *Kalanchoe laetivirens* extracts applied in biodiesel. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 3, p. 16998–17015, 2022. South Florida Publishing LLC. DOI: 10.34117/BJDV8N3-100.

DA SILVA, J. G.; PEREIRA, M. D. S. V.; GURGEL, A. P. D.; DE SIQUEIRA, J. P.; DE SOUZA, I. A. Atividade inibitória das folhas e caule de *Kalanchoe brasiliensis* Cambess frente a microrganismos com diferentes perfis de resistência a antibióticos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 3, p. 790–794, 2009. Sociedade Brasileira de Farmacognosia. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbfar/a/gckCdKxRdRhn7KqhHCWhkJN/?lang=pt>>. Acesso em: 4/10/2023.

SILVA, R. M. **PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Bryophyllum calycinum* Salisb (CRASSULACEAE)**. 2015.

SIMÕES, C. M. O.; P., S. E.; P., M. J. C.; MENTZ, L. A.; R., P. P. **Farmacognosia: Do Produto Natural ao Medicamento**. 3 ed ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

SINGH, G. **Plant Systematics - an integral approach 3th edition**. 2010.

SIROKA, Z. Toxicity of House Plants to Pet Animals. **Toxins**, v. 15, n. 5, p. 15, 2023. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). DOI: 10.3390/TOXINS15050346.

SOHGAURA, A. K.; BIGONIYA, P.; SHRIVASTAVA, B. In Vitro Antilithiatic Potential of *Kalanchoe pinnata*, *Emblica officinalis*, *Bambusa nutans*, and *Cynodon dactylon*. **Journal of pharmacy & bioallied sciences**, v. 10, n. 2, p. 83–89, 2018. India. DOI: 10.4103/JPBS.JPBS\_18\_18.

SOUSA, P. J. C.; ROCHA, J. C. S.; PESSOA, A. M.; ALVES, L. A. D.; CARVALHO, J. C. T. Estudo preliminar da atividade antiinflamatória de *Bryophillum calycinum* Salisb. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 1, p. 60–64, 2005. Sociedade Brasileira de Farmacognosia. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbfar/a/n4yyMLxhZ9fqmzczqLFCZjMJ/?lang=pt>>. Acesso em: 29/6/2023.

DE SOUZA, A. M.; DE OLIVEIRA, C. F.; DE OLIVEIRA, V. B.; *et al.* Traditional Uses, Phytochemistry, and Antimicrobial Activities of *Eugenia* Species - A Review. **Planta Medica**, v. 84, n. 17, 2018. DOI: 10.1055/a-0656-7262.

SPYROPOULOU, E. A.; DEKKER, H. L.; STEEMERS, L.; *et al.* Identification and characterization of (3Z):(2E)-hexenal isomerases from cucumber. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 272389, 2017. Frontiers Media S.A. DOI: 10.3389/FPLS.2017.01342/BIBTEX.

STEFANOWICZ-HAJDUK, J.; HERING, A.; KOWALCZYK, M.; *et al.* *Kalanchoe* sp. Extracts—Phytochemistry, Cytotoxic, and Antimicrobial Activities. **Plants**, v. 12, n. 12, p. 2268, 2023. MDPI. DOI: 10.3390/PLANTS12122268/S1.

SU, J. H.; CHANG, W. B.; CHEN, H. M.; *et al.* 10-Acetylirciformonin B, A Sponge Furanoterpenoid, Induces DNA Damage and Apoptosis in Leukemia Cells. **Molecules**, v. 17, n. 10, p. 11839–11848, 2012. Molecular Diversity Preservation International. DOI: 10.3390/MOLECULES171011839.

SU, Y. H.; TANG, L. P.; ZHAO, X. Y.; ZHANG, X. S. Plant cell totipotency: Insights into cellular reprogramming. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 63, n. 1, p. 228–243, 2021. John Wiley & Sons, Ltd. DOI: 10.1111/JIPB.12972.

Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. *Kalanchoe laetivirens* Desc. Disponível em: <<https://tropicos.org/name/50179274>>. Acesso em: 23/01/2024.

ÜRMÉNYI, F. G. G.; SARAIVA, G. DO N.; CASANOVA, L. M.; *et al.* Anti-HSV-1 and HSV-2 Flavonoids and a New Kaempferol Triglycoside from the Medicinal Plant *Kalanchoe daigremontiana*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 13, n. 12, p. 1707–1714, 2016. John Wiley & Sons, Ltd. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cbdv.201600127>>. Acesso em: 29/6/2023.

VALLI, M.; RUSSO, H. M.; BOLZANI, V. DA S. The potential contribution of the natural products from Brazilian biodiversity to bioeconomy. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 1, p. 763–778, 2018. Academia Brasileira de Ciências. DOI: 10.1590/0001-3765201820170653.

VARGAS, A.; HERRERA, I.; NUALART, N.; *et al.* The Genus *Kalanchoe* (Crassulaceae) in Ecuador: From Gardens to the Wild. **Plants**, v. 11, n. 13, p. 1746, 2022. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. DOI: 10.3390/PLANTS11131746.

WAMALWA, L. N.; CHESETO, X.; OUNA, E.; *et al.* Toxic ipomeamarone accumulation in healthy parts of sweetpotato (*Ipomoea batatas* L. Lam) storage roots upon infection by *Rhizopus stolonifer*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 1, p. 335–342, 2015. American Chemical Society. DOI: 10.1021/JF504702Z/SUPPL\_FILE/JF504702Z\_SI\_001.DOCX.

WANG, C.-Y.; HUANG, S.-C.; ZHANG, Y.; *et al.* Antiviral Ability of *Kalanchoe gracilis* Leaf Extract against Enterovirus 71 and Coxsackievirus A16. **Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM**, v. 2012, p. 503165, 2012. United States.

WANG, C. Y.; HUANG, S. C.; LAI, Z. R.; *et al.* Eupafolin and ethyl acetate fraction of *Kalanchoe gracilis* stem extract show potent antiviral activities against enterovirus 71 and coxsackievirus A16. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013. DOI: 10.1155/2013/591354.

WANG, Y. K.; LI, W. Q.; XIA, S.; *et al.* Metabolic Activation of the Toxic Natural Products From Herbal and Dietary Supplements Leading to Toxicities. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, p. 758468, 2021. Frontiers Media S.A. DOI: 10.3389/FPHAR.2021.758468/BIBTEX.

WARASHINA, T.; MIYASE, T. Flavonoid Glycosides from *Sedum bulbiferum*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 65, n. 12, p. 1199–1204, 2017. The Pharmaceutical Society of Japan. DOI: 10.1248/CPB.C17-00678.

WILLIAMS, M. C.; SMITH, M. C. Toxicity of *Kalanchoe* spp to chicks. **American journal of veterinary research**, v. 45, n. 3, p. 543–546, 1984. United States.

XIE, J.; TANG, W.; ZHAO, L.; *et al.* Enantioselectivity and allelopathy both have effects on the inhibition of napropamide on *Echinochloa crus-galli*. **Science of The Total Environment**, v. 682, p. 151–159, 2019. Elsevier. DOI: 10.1016/J.SCITOTENV.2019.05.058.

YEMITAN, O. K.; SALAHDEEN, H. M. Neurosedative and muscle relaxant activities of aqueous extract of *Bryophyllum pinnatum*. **Fitoterapia**, v. 76, n. 2, p. 187–193, 2005. Elsevier. DOI: 10.1016/J.FITOTE.2004.11.009.

ZAKHARCHENKO, N. S.; BELOUS, A. S.; BIRYUKOVA, Y. K.; *et al.* Immunomodulating and Revascularizing Activity of *Kalanchoe pinnata* Synergize with Fungicide Activity of Biogenic Peptide Cecropin P1. **Journal of immunology research**, v. 2017, p. 3940743, 2017. Egypt. DOI: 10.1155/2017/3940743.

ZAWIRSKA-WOJTASIAK, R.; JANKOWSKA, B.; PIECHOWSKA, P.; MILDNER-SZKUDLARZ, S. Vitamin C and aroma composition of fresh leaves from *Kalanchoe pinnata* and *Kalanchoe daigremontiana*. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–8, 2019. Nature Publishing Group. DOI: 10.1038/s41598-019-56359-1.

ZHIQUN, T.; JIAN, Z.; JUNLI, Y.; CHUNZI, W.; DANJU, Z. Allelopathic effects of volatile organic compounds from *Eucalyptus grandis* rhizosphere soil on *Eisenia fetida* assessed using avoidance bioassays, enzyme activity, and comet assays. **Chemosphere**, v. 173, p. 307–317, 2017. Chemosphere. DOI: 10.1016/J.CHEMOSPHERE.2017.01.004.

ZHOU, S.; JANDER, G. Engineering insect resistance using plant specialized metabolites. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 70, p. 115–121, 2021. Elsevier Current Trends. DOI: 10.1016/J.COPBIO.2021.03.005.